

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI  
**TOIMETISED**

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ  
ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА  
ACTA ET COMMENTATIONES UNIVERSITATIS TARTUENSIS

523

ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО  
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ  
И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Arstiteaduslikke töid

XLV

Труды по медицине

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI TOIMETISED  
УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ  
ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА  
ACTA ET COMMENTATIONES UNIVERSITATIS TARTUENSIS  
ALUSTATUD 1893.a. VIINIK 523 ВЫПУСК ОСНОВАНЫ В 1893.г.

ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО  
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ  
И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Arstiteaduslikke töid

XLV

Труды по медицине

ТАРТУ 1980

Редакционная коллегия:

А. Тамбоург (председатель), И. Таммагу, Л. Луай.

## О г л а в л е н и е

|  |    |
|--|----|
| Э. А р а к, У. М я э о р г, Т. П е х к. Об измен-<br>чивости состава эфирного масла ромашки ап-<br>течной .....  | 6  |
| Е. А р а к, У. М ä е о r g, Т. Р е h k. Über die<br>Verwandlungen des Bestandes der ätherischen<br>Öle der Kamillen. Zusammenfassung .....   | 18 |
| Э. А р а к, Й. Т а м м е о р г, У. М я э о р г.<br>О динамике некоторых компонентов эфирного<br>масла ромашки аптечной .....   | 19 |
| Е. А р а к, Ј. Т а м м е о r g, У. М ä е о r g.<br>Über die Dynamik einiger Komponenten des<br>ätherischen Teekamillenöls. Zusammenfassung .....   | 32 |
| Л. К и р ш. Влияние ПАВ на процесс экстрагирования<br>цветков ромашки аптечной и безъязычковой ...   | 33 |
| L. K i r s c h. Wirkung der oberflächenaktiven<br>Substanzen auf die Extraktionsprozesse der<br>Kamillenblüten. Zusammenfassung .....  | 40 |
| С. Ю р и с с о н. Кумарины пастушьей сумки .....   | 41 |
| S. J y r i s s o n. Coumarine substances of Capsella<br>bursa pastoris (L.) medic. Summary .....   | 43 |
| В. К о п п е л ь, Й. Т а м м е о р г. Влияние уда-<br>ления цветков на содержание алкалоидов дур-<br>мана обыкновенного, культивированного в се-<br>верной части Эстонской ССР. ....             | 44 |
| V. К о р р е l, Ј. Т а м м е o r g. Einfluß der Blü-<br>tenentfernung den auf Alkaloidgehalt des im<br>nördlichen Gebiet der Estnischen SSR kulti-<br>vierten Stechapfels. Zusammenfassung ..... | 52 |
| В. К о п п е л ь. О биосинтезе тропановых алкалои-<br>дов в дурмане обыкновенном в условиях уда-<br>ления цветков при ассимиляции радиоактивно-<br>го углерода .....                             | 53 |

|   |    |
|---|----|
| V. K o p p e l. Über die Biosynthese von Alkaloiden in Stechäpfeln bei der Blütenentfernung und Assimilation von radioaktivem Kohlenstoff. Zusammenfassung .....  | 58 |
| И. Т а м м а р у. О влиянии микроэлементов на накопление алкалоидов листьях дурмана при удобрении почвы разными дозами азота .....  | 59 |
| I. T a m m a r u. The influence of trace elements on the accumulation of alkaloids in the leaves of <i>Datura stramonium</i> L. in the presence of various doses of nitrogen in the soil. Summary ..... | 64 |
| И. Т а м м а р у. О влиянии больших доз кобальта на накопление алкалоидов в дурмане обыкновенном .  | 65 |
| I. T a m m a r u. The influence of large doses of cobalt on the accumulation of alkaloids in <i>Datura stramonium</i> L. Summary .....  | 70 |
| М. П а а в о, Б. Л у й к. Изучение устойчивости йоталамовой кислоты и вазографина .....   | 71 |
| M. P a a v o, B. L u i k. Die Untersuchungen der Erhaltungsfähigkeit der Iothalamsäure und des Vasograftins. Zusammenfassung .....  | 76 |
| М. П а а в о. Спектрофотометрическое определение йоталамовой кислоты и вазографина .....  | 77 |
| M. P a a v o. Die spektrophotometrische Untersuchung der Iothalamsäure und des Vasograftins. Zusammenfassung .....  | 85 |
| И. К р у з е. Хромато-полярографическое определение никотинамида в многокомпонентных витаминных препаратах .....  | 86 |
| I. K r u s e. Chromato-polarographic determination of nicotinamide in multicomponent pharmaceutical preparations. Summary .....   | 93 |
| И. К р у з е. Полярографическое поведение липоевой кислоты и липамида .....   | 94 |
| I. K r u s e. Polarographic behaviour of lipoic acid and lipamide. Summary .....  | 98 |

|   |     |
|---|-----|
| К. А н н у к, Б. Л у й к. Сравнительное исследование оксидиметрического определения трифтазина .....  | 99  |
| K. A n n u k, B. L u i k. Vergleichende Untersuchung der oxidimetrischen Bestimmung des Triftazins. Zusammenfassung .....   | 106 |
| О. Р а я в э э, Э. Х а н с с о н, Т. Л и н р и к у с. Действие препарата простагландина $E_2$ на изолированную тонкую кишку и матку крыс .....  | 107 |
| O. R a y a v e e, E. H a n s s o n, T. H i n r i k u s. The action of $PGE_2$ -preparation on the uterus and small intestine of isolated rats. Summary ....   | 115 |
| Л. А л л и к м е т с, М. О т т е р, Т. Л и н р и к у с, А. З а р к о в с к и й. Влияние нейролентиков на серотонинергическую систему при однократном и хроническом введении .....                   | 116 |
| L. A l l i k m e t s, M. O t t e r, T. H i n r i k u s, A. Z h a r k o v s k y. Effect of neuroleptics on the serotoninergetic system in case of single and long-term administration. Summary ..... | 121 |
| Л. Н у р м а н д, М. О т т е р. Годовая динамика содержания <b>серотонина</b> и его метаболита в мозге крыс .....   | 122 |
| L. N u r m a n d, M. O t t e r. The annual dynamics of serotonin and its metabolite content in the rat brain. Summary .....   | 125 |
| С. Ю р и с с о н, А. З а р к о в с к и й. Влияние дофаминергических веществ на гладкие мышцы тонкого кишечника крысы .....  | 126 |
| S. J y r i s s o n, A. Z h a r k o v s k y. The effect of dopaminergic compounds on the smooth muscle of the rat small intestine. Summary ....  | 131 |

## ОБ ИЗМЕНЧИВОСТИ СОСТАВА ЭФИРНОГО МАСЛА РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ

Э. Арак, У. Мязорг, Т. Пехк

Ромашка аптечная (*Matricaria recutita* L.) в настоящее время является важным целебным средством. Она блестящий пример того, как старое средство народной медицины в результате фармакологического и клинического изучения перешло в сокровищницу научной медицины.

Цветки ромашки находят широкое применение в медицине. Из них готовят вытяжки и лекарственные препараты. Они входят в состав разных сборов /21/.

Цветочные корзинки ромашки содержат 0,2-0,8% эфирного масла [ЭМ] /24/. В состав ЭМ, полученного дистилляцией водяными парами, входят хамазулен (III) (рис. I), который образуется от прохамазулена матрицина (I) во время дистилляции. Промежуточным продуктом при этом является хамазуленкарбоновая кислота (II) /10, 13/. В начале исследований ЭМ ромашки был найден (-)- $\alpha$ -бизаболол в изопропилиденовой (X) и изопропениловой (XI) формах /18/. Более поздние исследования показали, что существуют только изопропилиденовые формы, а изомеры изопропениловой формы являются продуктами химического вмешательства /9/.

В состав ЭМ входят (-)- $\alpha$ -бизабололоксид А (XII), (-)- $\alpha$ -бизабололоксид В (XIII) /15, 16/ и  $\alpha$ -бизабололмонооксиды (XIV, XV) /4/, (+)- $\alpha$ -бизабололоксид А (XVI) /14/, цис- и транс-ен-ин-дициклоэфиры (VIII, IX) /1/, фарнезен (VI), мирцен (IV), кадинен (V) /10/, фарнезол (VII) /20/. Методом тонкослойной хроматографии в составе ЭМ ромашки найдены 14 терпеновых гомологов /19/.

ЭМ ромашки обладает дезинфицирующим и противовоспалительным действием /24/. Впервые противовоспалительное действие хамазулена было обнаружено /5/. Наряду с хамазуленом противовоспалительное действие оказывает и (-)- $\alpha$ -бизаболол /11/, который помимо того обладает и сильным спазмолитическим действием /6/. Противовоспалительное и в пятьдесят раз сильнее папаверина спазмолитическое действие оказывает ен-ин-дициклоэфир. Заметного бактериостатического действия его на грам-положительные и грам-отрицательные микробы подтвердить

не удалось /2/. Недавно установлено, что компоненты ЭМ ромашки обладают и фунгистатической эффективностью. Среди них  $\alpha$ -бизаболол и ен-ин-дициклофилы эффективны уже в количестве 100 мкг/мл /17/. О фармакологических свойствах бизабололоксидов литературных данных пока нет /8/. Фарнезен заметного противовоспалительного действия не оказывает /3/.

По литературным данным качественный состав ЭМ ромашки зависит от гемотипа растения. Существуют бесхамазуленовые /22/ и без- $\alpha$ -бизабололовые /7/ расы ромашки аптечной. В некоторых ЭМ отсутствуют  $\alpha$ -бизабололоксид А и  $\alpha$ -бизабололоксид А /14/. Таким образом, лекарственное растительное сырье ромашки аптечной, поступающее в аптеки, может быть неодинаковым по своему химическому составу, а, следовательно, неравнозначным и по фармакологическому действию.

На основании данных об изменчивости качественного состава эфирных масел ромашки, мы поставили перед собой задачу сравнительного изучения качественного состава ЭМ культивируемой и дикорастущей в Эстонии ромашки.

#### Экспериментальная часть

Лекарственное растительное сырье /ЛРС/ культивируемой ромашки мы собирали на опытном поле лаборатории лекарственных растений кафедры фармации ТТУ, а дикорастущей ромашки - вблизи города Кингисеппа на острове Сааремаа.

#### 1. Изолирование компонентов ЭМ

ЭМ перегоняли из культивированного ЛРС водяными парами, тогда как отдельные компоненты его выделили методом проточной хроматографии. В качестве сорбента применяли силикагель (марка: для распределения) фирмы "Вельм" ФРГ. Схема препаративного изолирования вещества приведена на рис. 2. Каждую фракцию подвергали анализу методом хроматографии в тонком слое сорбента на пластинках "Силуфол". Индивидуальность полученных чистых фракций контролировали методом газожидкостной хроматографии /ГЖХ/.

#### 2. Идентификация изолированных компонентов

Компонент 6 (рис. 3) - хамазулен - идентифицирован по характерной для него синей окраске.

Для идентификации других изолированных компонентов применялись спектроскопические методы.



# КОМПОНЕНТЫ ЭФИРНОГО МАСЛА РОМАШКИ

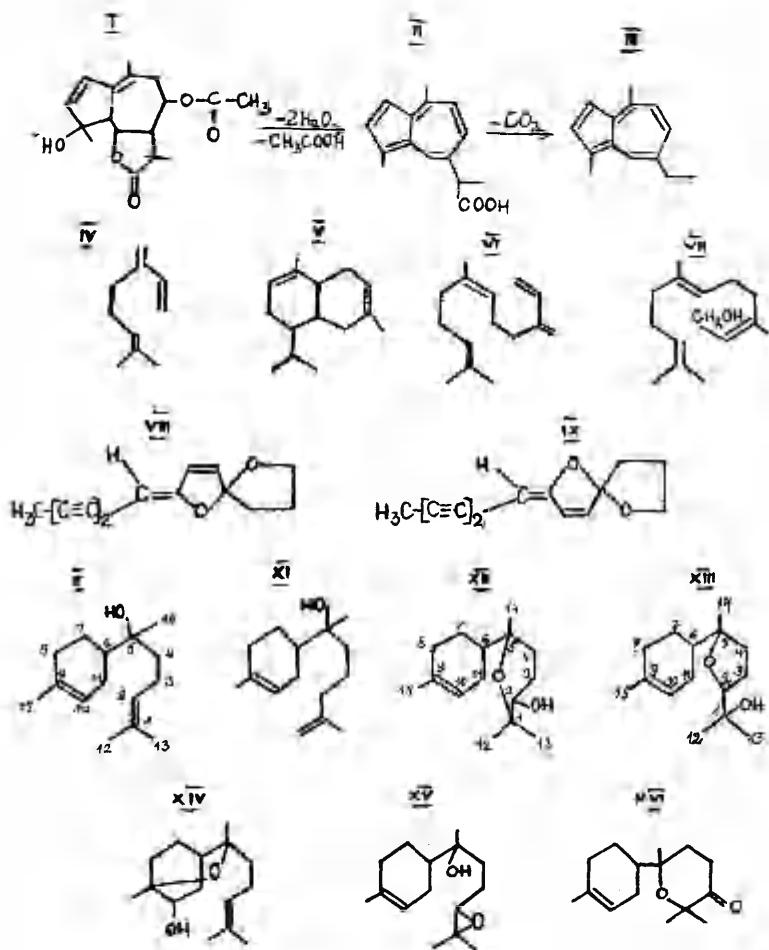


Рис. I

**СХЕМА ПРЕПАРАТИВНОГО ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО  
ИЗОЛИРОВАНИЯ ВЕЩЕСТВ ИЗ ЭМ РОМАШКИ**

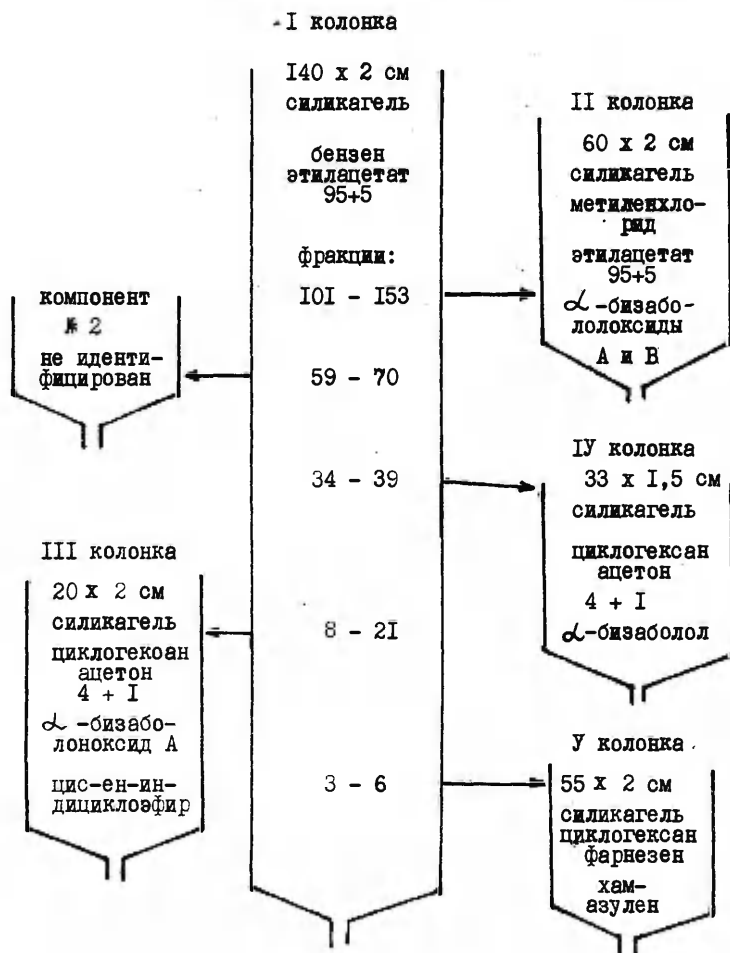


Рис. 2

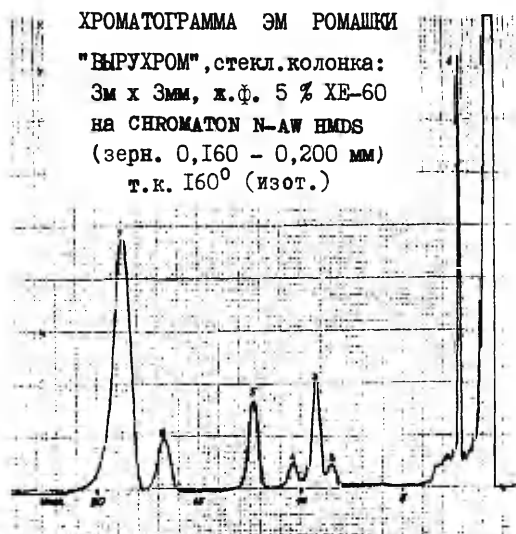


Рис. 3. 1 - фарнезен, 3- $\alpha$ -бизабололоксид В, 4 -  $\alpha$ -бизаболол, 5 -  $\alpha$ -бизаболоноксид А, 6 - хамазулен, 7 -  $\alpha$ -бизабололоксид А

Компонент 8 (рис. 4) - цис-ен-ин-дициклоэфир. ИК и УФ спектры изолированного нами вещества полностью совпадали со спектрами, описанными в литературе /1/.

Компонент 1 - фарнезен и компонент 5 -  $\alpha$ -бизаболоноксид А (рис. 5). Характеристика ИК спектров дана в таблице I.

Структуры компонентов 3, 4 и 7 определялись по их спектрам ЯРМ на ядрах  $^{13}\text{C}$ .

Компонент 4 по химическим сдвигам соответствует  $\alpha$ -бизабололу (X). Предполагаемые химические сдвиги его рассчитаны на базе моно- и дизамещенных алкилциклогексенов /23/, а также с учетом химических сдвигов линалола /12/ (см. табл. 2).

Образец компонента 7 имеет замещенный 1-метилциклогексеновый цикл. Это соединение имеет три связанных с кислородом атома. При этом у двух из них отсутствует связь С-Н, а один имеет одну связь С-Н. Структуры (XII) и (XIII) удовлетворяют

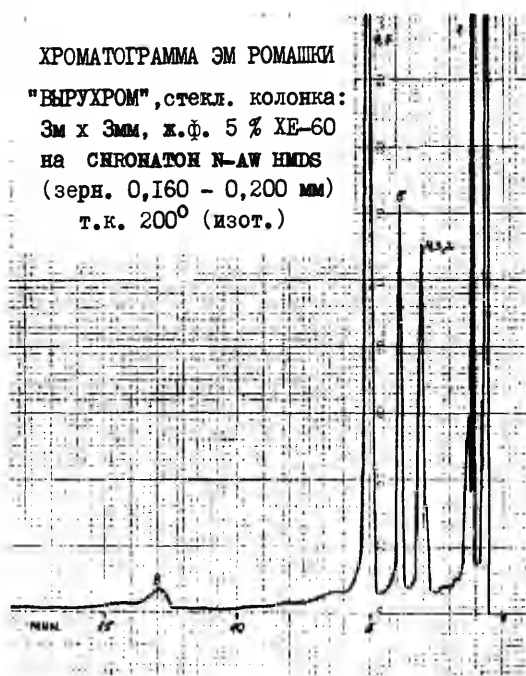


Рис. 4. 1 - фарнезен, 5 -  $\alpha$ -бизаболонооксид А,  
 8 - цис-ен-ин-дициклоэфир



этим условиям. Хотя в (XIII) метильные углеродные атомы C-12 и C-13 являются диастереотипными, различие в их экранировании вряд ли превышает 1 м.д. Поэтому для компонента 7 следует приписать структуру (XII). Оценка сдвигов гетероцикла показывает, что гидроксильная группа в этом соединении занимает аксиальное положение. Близость химических сдвигов циклогексеновых циклов в (X) и (XII) позволяет приписать (XII) конфигурацию с цис ориентацией циклогексенового цикла и гидроксильной группы. Образец компонента 3 по химическим сдвигам соответствует  $\alpha$ -бизабололоксиду В.

Химические сдвиги ядер  $^{13}\text{C}$  измерены на спектрометре WH-90 при частоте 22,62 Мгц. ИК спектры снимались на инфракрасном спектрофотометре Specord 71 IR.

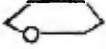

Провести полную идентификацию и выяснить структурную формулу компонента 2 (рис. 3) пока не удалось. Работа продолжается.

Т а б л и ц а I

Характеристика ИК спектров изолированных веществ

| Группа  |   |
|---|---|
| I   | 2   |
| <b>Гарнезен</b>   |   |
| 1. 3110 ср.; 2980 ср.   | = CH <sub>2</sub>   |
| 2. 2940 о.с.; 2880 с., 1455 с.  | - CH <sub>2</sub> -   |
| 3. 2980 ср.; 2885 сл.; 1465 ср.; 1380 с.; 1385 с.; 1110 ср.; 1155 ср. | -CH <sub>3</sub> и >C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                                |
| 4. 1603 с.; 1640 сл.; 990 с.  |    |
| 5. 1640 сл.; 905 с.; 1810 сл. - обергон                               | -CH=CH <sub>2</sub>   |
| 6. 1650 о. сл (перегиб у 1640); 890 о.с.;                             | >C=CH <sub>2</sub>  |
| 7. 1675 ср.; 830 ср.  | -C=C<   |
| <b>α-бизаболол</b>  |   |
| 1. 3440 с. (широкая); 1115 с.   | - OH  |
| 2. 1680 сл.; 830 ср.; 800 ср.   | -C=C<   |
| 3. 2940 о.с.; 2880 ср.; 1440 с.                                       | - CH <sub>2</sub> -   |
| 4. 2985 с.; 2860 ср.; 1455 с.; 1380 с.                                | - CH <sub>3</sub>   |
| <b>α-бизаболоноксид А</b>   |   |
| 1. 1735 о.с.; 3440 сл. (обергон)                                      | >C=O  |
| 2. 3040 сл.   | = OH -  |
| 3. 1680 сл.; 800 ср.  | -C=C<   |
| 4. 1160 - 1010 группа сильных полос                                   |  |
| 5. 1195 с.; 1215 сл.  | - CH <sub>2</sub> -   |
| 6. 2945 с.; 2860 ср.; 1470 с.; 1440 с.                                | - CH <sub>2</sub>   |
| 7. 2985 с.; 2895 ср.; 1365 ср.; 1380 с.                               | -CH <sub>3</sub> и >C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                                |

Продолжение таблицы I

| I   |  | 2   |
|---|--|---|
| $\alpha$ -бизабололоксид А  |  |   |
| 1. 3640 I065 с.   |  | - OH  |
| 2. 2960 о.с.; 2870 ср.; I460 с.;<br>I365 ср.; I380 с.   |  | -CH <sub>3</sub> и >C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                              |
| 3. 2925 с.; I470 ср.; I445 ср.  |  | - CH <sub>2</sub> -   |
| 4. I675 о.сл.; 760 о.с.   |  | >C = C -  |
| 5. II60 - 980 группа сильных полос<br>и I240 с.   |  |  |
| $\alpha$ -бизабололоксид В  |  |   |
| 1. 3435 с. (широкая); II20 с.   |  | - OH  |
| 2. I680 сл.; 800 ср.  |  | >C = C <  |
| 3. 3050 сл.   |  | = CH -  |
| 4. 2925 с.; I470 с.; I445 с.  |  | - CH <sub>2</sub> -   |
| 5. 2985 о.с.; 2895 ср.; I450 с.; I380 о.с.  |  | - CH <sub>3</sub>   |
| 6. 980 - II60 группа сильных полос и<br>I230 с.   |  |  |
| Сокращения: Название вещества. Основные<br>полосы поглощения в см <sup>-1</sup> . Интенсивность<br>полос: о.с. - очень сильная; с. - силь-<br>ная; ср. - средняя, сл. - слабая; о.сл.<br>- очень слабая |  |   |

Т а б л и ц а 2

Химические сдвиги ядер <sup>13</sup>C ( $\delta$  TMC)  $\alpha$ -бизаболола,  
 $\alpha$ -бизабололоксида А и  $\alpha$ -бизабололоксида В

| Атом  | $\alpha$ -бизаболол<br>комп. 4 (X) |       | $\alpha$ -бизабололоксид<br>А, комп. 7 (XII) |   | $\alpha$ -бизабололоксид<br>В, комп. 3 (XIII) |   |
|-------|------------------------------------|-------|--|---|---|---|
|       | расч.                              | эксп. | эксп.  |   | эксп.   |   |
| I     | 2                                  | 3     | 4  | 5 | 6   | 7 |
| C - I | 131,5                              | 131,6 | 74,3   |   | 85,2  |   |
| C - 2 | 124,5                              | 124,8 | 71,7   |   | 84,2  |   |
| C - 3 | 27,7                               | 27,1  | 23,5   |   | 26,4  |   |

Продолжение таблицы 2

| I      | 2     | 3     | 4     | 5     |
|--------|-------|-------|-------|-------|
| C - 4  | 40,0  | 40,3  | 28,5  | 35,4  |
| C - 5  | 73,3  | 74,3  | 74,7  | 71,5  |
| C - 6  | 44,4  | 43,1  | 44,2  | 44,1  |
| C - 7  | 24,7  | 23,4  | 24,1  | 24,5  |
| C - 8  | 31,9  | 31,2  | 31,3  | 31,1  |
| C - 9  | 133,5 | 134,1 | 133,7 | 134,0 |
| C - 10 | 120,7 | 120,8 | 121,2 | 120,8 |
| C - 11 | 27,3  | 27,2  | 27,1  | 27,5  |
| C - 12 | 25,6  | 25,7  | 25,8  | 22,1  |
| C - 13 | 17,6  | 17,7  | 29,1  | 24,5  |
| C - 14 | 23,2  | 23,4  | 23,3  | 27,2  |
| C - 15 | 23,6  | 23,4  | 23,4  | 23,4  |

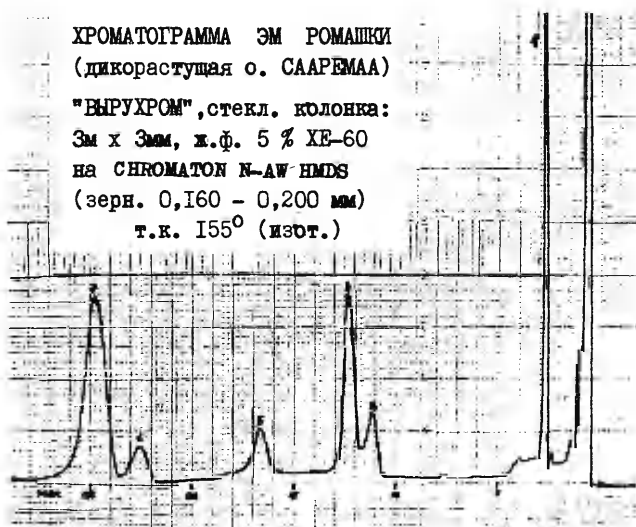


Рис. 5. На хроматограмме отсутствует пик 4 компонента, т.е. отсутствует  $\alpha$ -бизабол

### 3. ГЖХ эфирного масла ромашки

Для ГЖХ анализа ромашки применяли аналитический газовый хроматограф "Выдохром А-Г". Условия хроматографирования:

- 1) стеклянная колонка: длина 3 м, внутренний диаметр 3 мм
- 2) жидкая фаза: 5% ХЕ-60 на Chromaton N-AW HMDS (зернистость 0,160-0,200 мм)
- 3) пламенный ионизационный детектор
- 4) газ носитель: азот
- 5) температура испарителя: 275°
- 6) температура ионизационного детектора: 200° и 250°
- 7) режим температуры колонки: изотермический или программированный.

В условиях программированной температуры (от 145 до 200°) на хроматограмме в течение 28 мин. появились 16 пиков. При температуре колонки 160° различимы на хроматограмме 7 основных пиков (рис. 3). При температуре колонки 200° пики 2, 3, 4 и 6, 7 перекрываются и неразделимы. На хроматограмме появляется восьмой пик (рис. 4). Местонахождение пиков изолированных веществ на хроматограмме определили временем удерживания отдельных компонентов или добавлением их в пробу ЭМ в качестве веществ-тестеров.

ЭМ для ГЖХ анализа мы получили методом, описанным в Государственной Фармакопее /25/ (определение эфирного масла, метод 2а), растворяя собранное ЭМ в градуированном приемнике четыреххлористым углеродом.

На газовой хроматограмме ЭМ из цветков дикорастущей ромашки отсутствует четвертый пик, т.е. пик соответствующий  $\alpha$ -бизаболу (рис. 5).

### В ы в о д ы

1. Методом ГЖХ установлено наличие 16 компонентов эфирного масла ромашки. Из них изолировали и идентифицировали семь: хамазулен, фарнезен,  $\alpha$ -бизабол,  $\alpha$ -бизаболокисды А и В,  $\alpha$ -бизаболоноксид А и цис-ен-ин-дициклоэфир.

2. Эфирное масло из цветков дикорастущей ромашки острова Сааремаа не содержит  $\alpha$ -бизаболола. Таким образом, поступающие в аптеки цветки ромашки не одинаковы по химическому составу, а, следовательно, и по своему фармакологическому действию.



3. При оценке качества цветков ромашки нельзя ограничиваться определением содержания эфирного масла, как это требуется в нормативных документах. Для оценки качества цветков ромашки целесообразно разработать более точные методы.

### Л и т е р а т у р а

1. Bohlmann P., Herbst P., Arndt C., Schönowsky H., Gleinig H. Über einen neuen Typ von Polyacetylenverbindungen aus verschiedenen Vertretern des Tribus Anthemideae L. "Chemische Berichte" 94, Nr. 12, 1961, 3193-3216.
2. Breinlich J., Scharnagel K. Pharmakologische Eigenschaften des EN-IN-Dicycloäthers aus Matricaria chamomilla. "Arzneimittel - Forschung" 18, Nr. 4, 1968, 429-431.
3. Nava M., Janku I., О фармакологических свойствах ромашки и можжевельника "Review of Czechoslovak Medici" 3, Nr. 2, 1957, 129-137.
4. Herout V. Recent results in the study of the chemistry of terpenoids. "Herba Hungarica" 14, Nr. 2-3, 1975, 109-122.
5. Haubner W., Albath W. Über die entzündungswidrige Wirkung des Rein-Azulens aus Matricaria chamomilla L. "Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie" 192, 1939, 383-388.
6. Holub M., Herout V., Sorm P. Synthesa  $\alpha$ -bisabololu - spasmolytický účinný seskriterpenický alkohol. "Československá Farmacie" 4, 1955, 129-131.
7. Isaac O. Fortschritte in der Kamillenforschung. "Deutsche Apotheker - Zeitung" 114, Nr. 7, 1974, 255-260.
8. Isaac O. Stand der Kamillenforschung heute, Erfahrungstherapie - späte Rechtfertigung. Internationales Symposium, Wien 1975, Verlag G. Braun, Karlsruhe 1975, 55-65.
9. Isaac O., Schneider H., Eggenschwiller H. Beitrag zur Kenntnis des Kamillen - Bisabolols. "Deutsche Apotheker - Zeitung" 108, Nr. 9, 1968, 293-298.
10. Isaac O., Schimpke H. Alte und neue Erkenntnisse der Kamillenforschung. Sonderdruck aus Mitteilungen der

Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft und der Pharmazeutischen Gesellschaft der DDR. 35. Jahrg. 1965, Heft 8, Seite 133-147 und Heft 9, Seite 157-170.

11. Jakovlev V., Schlichtegroll A. Zur entzündungshemmenden Wirkung von (-)- $\alpha$ -Bisabolol, einem wesentlichen Bestandteil des Kamillenöls. "Arzneimittel-Forschung" 19, Nr. 4, 1969, 615-616.
12. Johnson L.F., Jankowski W.C. Carbon-13 NMR Spectra, Wiley Interscience, New York 1972.
13. Luckner M., Bessler O., Luckner R. Vorschläge für den Drogenteil des DAB 7. 26. Mitteilung: Flores Chamomillae. "Die Pharmazie" 21, Nr. 10, 1966, 620-627.
14. Motl O., Felklova M., Lukes V., Jasicova M. Zur GC Analyse und zu chemischen Typen von Kamillenöl. "Archiv der Pharmazie" 310, Nr. 3, 1977, 210-215.
15. Sampath V., Trivedi G.K., Paknikar S.K., Bhattacharyya S.C. Structure of Bisabolol Oxide-A. "Indian Journal of Chemistry" 7, Nr. 1, 1969, 100.
16. Sampath V., Thakar M.R., Paknikar S.K., Sabata B.K., Bhattacharyya S.C. Structure of d- & l-Isomers of  $\alpha$ -Bisabolol Oxide B "Indian Journal of Chemistry" 7, Nr. 10, 1969, 1060-1061.
17. Szalontai M., Verzarne P.G., Florian E. Adatok a Matricaria chamomilla L. biológiaiilag aktiv komponenseinek antifungalis hatasahoz. "Acta Pharmaceutica Hungarica" 46, Nr. 5-6, 1976, 232-247.
18. Sorm F., Zaoral M., Herout V. Строение природного бисаболола и бисабололмоноксида из ромашкового эфирного масла. "Collection of Czechoslovak Chemical Communications" 18, Nr. 1, 1953, 116-121.
19. Tyihak E., Vaquifalvi D. Исследование эфирных масел методом тонкослойной хроматографии. "Herba Hungarica" 1, Nr. 1, 1962, 97-103.
20. Verzarne P.G., Lemberkovics E. Gaskromatografias eljares a Kamillaolaj kvalitatív es kvantitatív vizsgalatara. "Acta Pharmaceutica Hungarica" 46, Nr. 3, 1976, 129-143.

ÜBER DIE VERWANDLUNGEN DES BESTANDES  
DER ÄTHERISCHEN ÖLE DER KAMILLEN

E. Arak, U. Mäeorg, T. Pehk

Z u s a m m e n f a s s u n g

Mit Hilfe der Methode der Gaschromatographie gelang es, das Vorhandensein von 16 Komponenten der ätherischen Öle der Kamillen nachzuweisen. Mit Hilfe der Säulenchromatographie wurden vom ätherischen Öl Chamazulen, Farnesen,  $\alpha$ -Bisabolol,  $\alpha$ -Bisabololoxide A und B,  $\alpha$ -Bisabolonoxid A und cis-En-In-Dicycloäther isoliert. Um sie zu identifizieren, wurden UV-, IR- und KMR-Spektroskopie angewandt.

Es wurde festgestellt, daß die Blüten der wild auf der Insel Saaremaa wachsenden Kamillen  $\alpha$ -Bisabolol nicht enthalten. Die Beschaffenheit der Blüten der Kamillen hängt von der Chemotypie der Pflanzen ab.

Man darf sich nicht mit der Feststellung der ätherischen Öle in den Blüten der Kamillen begnügen, wie das in normativen Dokumenten gefordert wird. Um die Eigenschaften der Blüten der Kamille richtig einschätzen, ist es nötig, genauere Methoden auszuarbeiten.

## О ДИНАМИКЕ НЕКОТОРЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭФИРНОГО МАСЛА РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ

Э. Арак, И. Таммеорг, У. Мязорг

Из эфирного масла (ЭМ) ромашки аптечной изолирован и идентифицирован ряд компонентов: хамазулен,  $\alpha$  - бисаболол,  $\alpha$  - бисабололоксиды А, В, и С,  $\alpha$  - бисаболоноксид А, ен-ин-дициклоэфиры и др. /1, 2, 4, 7/. ЭМ ромашки в целом и некоторые его компоненты обладают выраженными фармакологическими свойствами. Поэтому вопрос о качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) ромашки аптечной тесно связан с количественным содержанием эфирного масла в нем и зависит также от качественного и количественного состава эфирного масла.

Изучению содержания ЭМ и прохамазулена в цветках ромашки посвящено много работ. Доказано, что содержание ЭМ и прохамазулена в цветках зависит от фазы их развития. По мере развития цветочных корзинок оно постепенно повышается, достигает максимума в период полного цветения, а затем снижается /8/. По другим данным содержание эфирного масла и прохамазулена постепенно возрастает по мере увеличения веса цветочных корзинок, достигает максимума в период полного цветения, а затем снижается /3, 6/. Биосинтез проаузулена начинается на самых ранних стадиях развития цветка и происходит во время всего процесса развития параллельно нарастанию ЭМ и сухого вещества в цветке /5/. Эфирное масло и прохамазулен содержатся главным образом в трубчатых цветках. В язычковых цветках, цветоложе и листочках обертки прохамазулена почти нет /8/.

О динамике других компонентов ЭМ литературных данных нет. Поэтому мы попытались изучить накопление некоторых компонентов ЭМ в течение периода вегетации и распределение их в частях цветочной корзинки.

### Экспериментальная часть

#### 1. Взятие пробы

На опытном поле лекарственных растений кафедры фармации ТТУ из производственной культуры ромашки аптечной отделили деланку, с которой в момент максимального цветения собира-

лись все корзинки.

Корзинки разделили на 4 части. Из первой части отделили корзинки по четырем стадиям их развития и высушили в тени (рис. 1).



Рис. 1. I стадия - закрытые бутоны и полураскрывшиеся бутоны, имеющие зачатки язычковых цветков. II стадия - язычковые цветки распушены, стоят горизонтально, трубчатые цветки распушены частично. III стадия - язычковые и трубчатые цветки распушены полностью, цветоложе равномерно выпуклое, язычковые цветки стоят горизонтально. IV - стадия - незрелые корзинки

Вторая и третья части собранных корзинок сушились в таких же условиях.

После сушки цветки ромашки из второй части разделили на

- цветоложе с листочками обертки и цветоносами

- язычковые цветки

- трубчатые цветки.

Четвертая часть корзинок сушилась на солнце в течение 48 часов.

Для сравнения взяли также 2 пробы ЛРС ромашки, полученные в производственных условиях. Первая проба была взята в начале цветения (из I производственного сбора), а вторая из последнего III производственного сбора. Интервал между первым и третьим сбором составлял 4 недели. Обе пробы сушили в тени.

## 2. Определение содержания эфирного масла

Для количественного определения ЭМ применяли модифицированный прибор (рис. 2), отличающийся от фармакопейного прибора возможностью отделить из системы приемник. Вместо холо-

# Схема прибора для определения эфирного масла

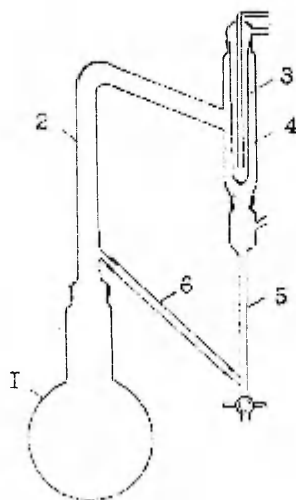


Рис. 2. I - колба круглодонная, 2 - паропроводная трубка, 3 - холодильник, 4 - камера охлаждения, 5 - градуированная часть приемника, 6 - сливная трубка

дильника используется съемный охлаждающий палец. Прибор с такой модификацией позволяет удобно собирать ЭМ (поиск количественного измерения его) для дальнейшего количественного определения его компонентов методом газожидкостной хроматографии.

Для предохранения ЭМ от загустевания на стенках приемной трубки в приемник добавляли 0,1 мл толуола, точно измерив его объем. Объем ЭМ рассчитывали из общего объема ЭМ и толуола в приемнике.

Т а б л и ц а 1

Сухой вес корзинок, количество см<sup>3</sup> и число компонентов в одной корзине  
по средним из десяти

| № п/п | Название            | Сухой вес в кг, жирное масло в мл, компонентов в мг |            |            |            |          |           |
|-------|---------------------|---|------------|------------|------------|----------|-----------|
|       |                     | I группа  | II группа  | III группа | IV группа  | V группа | VI группа |
| I     | 2                   | 3   | 4          | 5          | 6          | 7        | 8         |
| 1.    | Сухой вес корзины   | 7,7±0,64  | 13,7±0,50  | 18,7±0,46  | 14,0±0,89  |          |           |
| 2.    | Жирное масло        | 0,04±0,005  | 0,08±0,012 | 0,09±0,017 | 0,08±0,013 |          |           |
| 3.    | Фирезен             | 3,3±0,20  | 1,9±0,08   | 1,1±0,07   | 1,10±0,06  |          |           |
| 4.    | А. - Бизабол        | 1,1±0,07  | 1,9±0,08   | 2,4±0,10   | 1,76±0,10  |          |           |
| 5.    | А. - Бизаболоксид А | 17,9±1,04   | 38,10±1,14 | 43,25±1,82 | 28,00±1,63 |          |           |
| 6.    | А. - Бизаболоксид В | 7,37±0,38   | 15,28±0,76 | 17,45±0,84 | 11,42±0,51 |          |           |
| 7.    | А. - Бизаболоксид А | 3,8±0,19  | 8,40±0,30  | 10,88±0,42 | 7,32±0,42  |          |           |
| 8.    | Амазузон            | 2,10±0,11   | 3,58±0,17  | 3,58±0,18  | 2,77±0,19  |          |           |
| 9.    | А. - Бизаболоксид В | 5,5±0,40  | 8,08±0,56  | 7,42±0,39  | 6,54±0,53  |          |           |

Т а б л и ц а 2

Содержание ЗМ и его компонентов в 100 г сырья из коровьих разной стадии развития

| №<br>п/п | Название              | Содержание ЗМ в мл/100 г сырья, компонентов в мг/100 г сырья |            |            |             |  |  |
|----------|-----------------------|--|------------|------------|-------------|--|--|
|          |                       | I стадия   | II стадия  | III стадия | IV стадия   |  |  |
| 1.       | 2.                    | 3.   | 4.         | 5.         | 6.          |  |  |
| 1.       | Жирное масло          | 0,55±0,07  | 0,58±0,08  | 0,51±0,08  | 0,45±0,08   |  |  |
| 2.       | Фарнезен              | 38,9 ±2,4  | 12,8 ±0,6  | 5,9 ±0,3   | 7,3 ±0,4    |  |  |
| 3.       | α-Бизаболол           | 13,6 ±0,8  | 13,3 ±0,5  | 11,9 ±0,6  | 11,6 ±0,6   |  |  |
| 4.       | α-Бизабололоксид А    | 216,8 ±12,6  | 254,7 ±7,6 | 213,5 ±9,9 | 184,8 ±10,7 |  |  |
| 5.       | α-Бизабололоксид В    | 87,5 ±4,6  | 102,1 ±5,1 | 86,1 ±3,1  | 75,4 ±3,4   |  |  |
| 6.       | α-Бизабололоксид А    | 45,4 ±2,2  | 56,2 ±2,0  | 68,7 ±2,1  | 47,3 ±2,7   |  |  |
| 7.       | Хамизулен             | 24,9 ±1,3  | 23,9 ±1,0  | 17,7 ±0,8  | 18,3 ±1,2   |  |  |
| 8.       | Цис-ен-ин-децилоксифт | 65,5 ±4,8  | 54,0 ±3,7  | 36,6 ±1,9  | 43,1 ±3,5   |  |  |



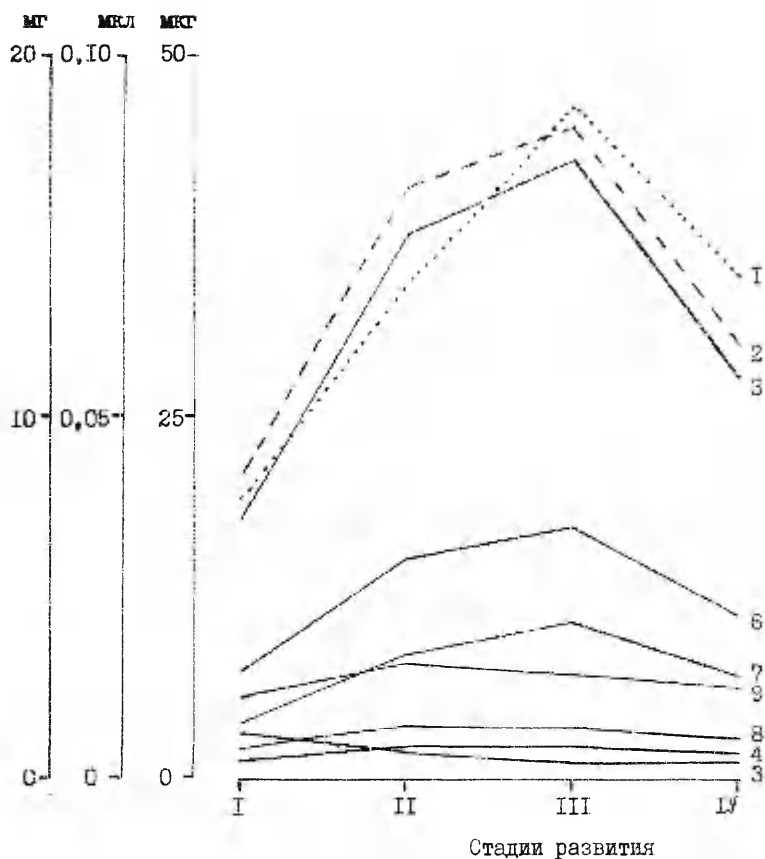


Рис. 3 СУХОЙ ВЕС КОРЗИНКИ, КОЛИЧЕСТВО ЭФИРНОГО МАСЛА И ЕГО КОМПОНЕНТОВ В ОДНОЙ КОРЗИНКЕ ПО СТАДИЯМ ИХ РАЗВИТИЯ

1. Сухой вес 2. Эфирное масло 3. Фарнезен 4.  $\alpha$ -бизаболл 5.  $\alpha$ -бизабололоксид А 6.  $\alpha$ -бизабололоксид В 7.  $\alpha$ -бизаболоноксид А 8. Хамазулен 9. Цис-ен-ин-дициклоэфир

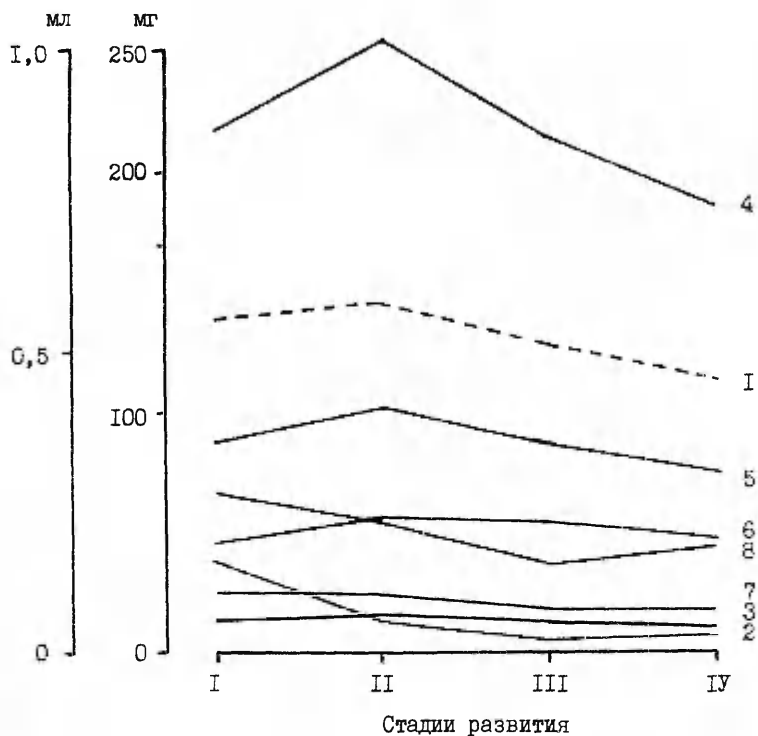


Рис. 4 СОДЕРЖАНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА И ЕГО КОМПОНЕНТОВ В  
100 г СЫРЬЯ ИЗ КОРЗИНОК РАЗНЫХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ

1. Эфирное масло 2. Фарнезен 3.  $\alpha$ -бизабол 4.  $\alpha$ -бизаболоксид А  
5.  $\alpha$ -бизаболоксид В 6.  $\alpha$ -бизаболоноксид А  
7. Хамазулен 8. Цис-ен-ин-дициклоэфир

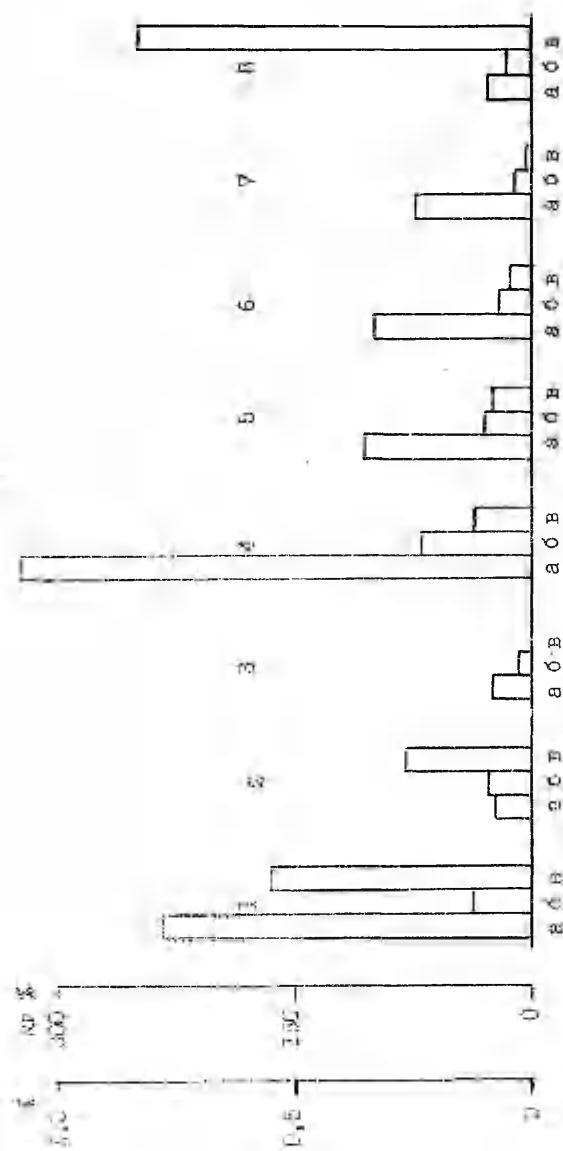


Рис. 5 РАСРЕЩЕНИЕ ЖИРНОГО МАСЛА И ЕГО КОМПОНЕНТОВ МЕЖДУ ЧАСТЯМИ ЦВЕТНОЙ

КОЛЕРИМ

1. Жирное масло. 2. Карнаен. 3.  $\alpha$ -бизаболол. 4.  $\alpha$ -бизаболоксид. А. 5.  $\alpha$ -бизаболоксид. В. 6.  $\alpha$ -бизаболоксид. А. 7. Хлмзуглен. 8. Цис-ан-ин-дишмалофур. 9. Цис-ан-ин-дишмалофур. 10. Цис-ан-ин-дишмалофур. 11. Цис-ан-ин-дишмалофур. 12. Цис-ан-ин-дишмалофур. 13. Цис-ан-ин-дишмалофур. 14. Цис-ан-ин-дишмалофур. 15. Цис-ан-ин-дишмалофур. 16. Цис-ан-ин-дишмалофур. 17. Цис-ан-ин-дишмалофур. 18. Цис-ан-ин-дишмалофур. 19. Цис-ан-ин-дишмалофур. 20. Цис-ан-ин-дишмалофур. 21. Цис-ан-ин-дишмалофур. 22. Цис-ан-ин-дишмалофур. 23. Цис-ан-ин-дишмалофур. 24. Цис-ан-ин-дишмалофур. 25. Цис-ан-ин-дишмалофур. 26. Цис-ан-ин-дишмалофур. 27. Цис-ан-ин-дишмалофур. 28. Цис-ан-ин-дишмалофур. 29. Цис-ан-ин-дишмалофур. 30. Цис-ан-ин-дишмалофур. 31. Цис-ан-ин-дишмалофур. 32. Цис-ан-ин-дишмалофур. 33. Цис-ан-ин-дишмалофур. 34. Цис-ан-ин-дишмалофур. 35. Цис-ан-ин-дишмалофур. 36. Цис-ан-ин-дишмалофур. 37. Цис-ан-ин-дишмалофур. 38. Цис-ан-ин-дишмалофур. 39. Цис-ан-ин-дишмалофур. 40. Цис-ан-ин-дишмалофур. 41. Цис-ан-ин-дишмалофур. 42. Цис-ан-ин-дишмалофур. 43. Цис-ан-ин-дишмалофур. 44. Цис-ан-ин-дишмалофур. 45. Цис-ан-ин-дишмалофур. 46. Цис-ан-ин-дишмалофур. 47. Цис-ан-ин-дишмалофур. 48. Цис-ан-ин-дишмалофур. 49. Цис-ан-ин-дишмалофур. 50. Цис-ан-ин-дишмалофур. 51. Цис-ан-ин-дишмалофур. 52. Цис-ан-ин-дишмалофур. 53. Цис-ан-ин-дишмалофур. 54. Цис-ан-ин-дишмалофур. 55. Цис-ан-ин-дишмалофур. 56. Цис-ан-ин-дишмалофур. 57. Цис-ан-ин-дишмалофур. 58. Цис-ан-ин-дишмалофур. 59. Цис-ан-ин-дишмалофур. 60. Цис-ан-ин-дишмалофур. 61. Цис-ан-ин-дишмалофур. 62. Цис-ан-ин-дишмалофур. 63. Цис-ан-ин-дишмалофур. 64. Цис-ан-ин-дишмалофур. 65. Цис-ан-ин-дишмалофур. 66. Цис-ан-ин-дишмалофур. 67. Цис-ан-ин-дишмалофур. 68. Цис-ан-ин-дишмалофур. 69. Цис-ан-ин-дишмалофур. 70. Цис-ан-ин-дишмалофур. 71. Цис-ан-ин-дишмалофур. 72. Цис-ан-ин-дишмалофур. 73. Цис-ан-ин-дишмалофур. 74. Цис-ан-ин-дишмалофур. 75. Цис-ан-ин-дишмалофур. 76. Цис-ан-ин-дишмалофур. 77. Цис-ан-ин-дишмалофур. 78. Цис-ан-ин-дишмалофур. 79. Цис-ан-ин-дишмалофур. 80. Цис-ан-ин-дишмалофур. 81. Цис-ан-ин-дишмалофур. 82. Цис-ан-ин-дишмалофур. 83. Цис-ан-ин-дишмалофур. 84. Цис-ан-ин-дишмалофур. 85. Цис-ан-ин-дишмалофур. 86. Цис-ан-ин-дишмалофур. 87. Цис-ан-ин-дишмалофур. 88. Цис-ан-ин-дишмалофур. 89. Цис-ан-ин-дишмалофур. 90. Цис-ан-ин-дишмалофур. 91. Цис-ан-ин-дишмалофур. 92. Цис-ан-ин-дишмалофур. 93. Цис-ан-ин-дишмалофур. 94. Цис-ан-ин-дишмалофур. 95. Цис-ан-ин-дишмалофур. 96. Цис-ан-ин-дишмалофур. 97. Цис-ан-ин-дишмалофур. 98. Цис-ан-ин-дишмалофур. 99. Цис-ан-ин-дишмалофур. 100. Цис-ан-ин-дишмалофур.

### 3. Количественное определение компонентов эфирного масла

Для количественного определения компонентов эфирного масла применяли метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ).

Толуольный раствор ЭМ перенесли количественно в колбочке с безводным сульфатом натрия, смывая толуолом также и охлаждающий палец. Фильтровали, отгоняли с помощью вакуумно-ротационного испарителя избыток толуола, затем прибавляли внутренний стандарт и подвергали анализу.

ГЖХ - анализ проводили аналитическим газовым хроматографом "Выдухром" А-1.

Условия хроматографирования:

- 1) стеклянная колонка: длина 3 м, внутренний диаметр 3 мм
- 2) жидкая фаза 5% ХЕ-60 + 5% Е-30 на хроматон N-AW HMDS зернением 0,160-0,200 мм; нанесенные раздельно и заполнены последовательно
- 3) пламенный ионизационный детектор
- 4) газ-носитель: гелий
- 5) температура ионизационного детектора: 250°
- 6) температура испарителя: 275°
- 7) режим температуры колонки: программированный; от 155° до 240°.

### 4. Обсуждение результатов

Средний абсолютный сухой вес корзинки нарастает по мере развития корзинок до стадии полного цветения, а затем снижается. Аналогично среднему весу нарастает и снижается количество ЭМ,  $\alpha$ -бизаболола,  $\alpha$ -бизабололоксидов, А и В и  $\alpha$ -бизаболоноксида А в одной корзинке (таблица I, рис. 3; цифровые данные во всех таблицах приводятся в виде арифметического среднего  $\pm$  доверительные границы,  $\bar{x} \pm m_{95}$ ). Содержание фарнезена самое высокое в бутонах, а по мере роста и развития корзинки постепенно снижается. В перезрелой корзинке его содержание почти в 3 раза меньше, чем в бутонах. Содержание хамазулена выше в корзинке во II и III стадиях развития. Количество цис-ен-ин-дициклоэфира с развитием корзинки нарастает до II стадии развития, а позднее постепенно снижается. Количественные изменения компонентов ЭМ в течение развития цветочных корзинок указывают на существенное изме-

нение в процессе биосинтеза терпенов. Возможно, что в поздних стадиях развития корзинок протекает энергичный синтез более сложных терпенов и окисдированных сесквитерпенов. Вычисляя содержание ЭМ и его компонентов на 100 г сырья из корзинок данной стадии развития (табл. 2, рис. 4), получается максимальное содержание ЭМ,  $\alpha$ -бизабололоксидов А и В и  $\alpha$ -бизаболонооксида А в сырье из корзинок II стадии развития. Содержание фарнезена,  $\alpha$ -бизаболола, хамазулена и цис-ен-ин-дициклоэфира самое высокое в сырье из бутонов. В содержаниях  $\alpha$ -бизаболола и хамазулена в 100 г сырья в I и II стадиях развития особых различий нет, но заметно направление к снижению при переходе сырья от II до III стадий развития. Содержание цис-ен-ин-дициклоэфира в сырье из корзинок II стадии развития выше приблизительно на 18%, чем в сырье из корзинок полного цветения. Чем больше в сырье корзинок II стадии развития, тем больше и выход ЭМ,  $\alpha$ -бизабололоксидов А и В, цис-ен-ин-дициклоэфира и тенденция к повышению содержания хамазулена и  $\alpha$ -бизаболола. В состав ЛРС, в зависимости от начала и времени сбора цветков, попадают цветочные корзинки разных стадий развития. Данные таблицы 2 указывают, что для получения высококачественных ЛРС целесообразно собирать цветки в более ранний период цветения, так как при этом в состав ЛРС попадают в большинстве цветки II стадии развития.

В производстве ЛРС ромашки аптечной необходимо своевременное начало сбора (до полного цветения поля). Интервал между отдельными сборами — 2 недели. Данные таблицы 3 указывают, что сборное сырье ЛРС последнего сбора не уступает по своему качественному составу ЭМ сырья I сбора. Уменьшения биологически активных компонентов ЭМ не замечается. Раннее начало сбора цветков обеспечивает высокое качество ЛРС всех сборов. На это указывают и наши работы (И.К. Таммеорт, Э.А. Арак — Материалы I съезда фармацевтов Узбекистана, Ташкент 1975).

Накопление ЭМ продолжается и при сушке ЛРС (табл. 4). Сушка, особенно на солнце (вероятно, под действием УФ лучей), вызывает глубокие изменения количественного состава компонентов ЭМ. Из полученных данных вытекает, что при заготовке ЛРС ни в коем случае нельзя сушить корзинки на солнце.

Эфирное масло,  $\alpha$ -бизаболол,  $\alpha$ -бизабололоксиды А и В,  $\alpha$ -бизаболонооксид А и прохамазулен размещаются в основном в трубчатых цветках (табл. 5, рис. 5). Основные количества фарнезена и цис-ен-ин-дициклоэфира находятся в пробе, сос-

Т а б л и ц а     3  
Изменение содержания ЭМ и его компонентов  
в ЛРС в производственных условиях

| №<br>п/п | Название              | Содержание ЭМ в мл/100 г<br>компонентов в мг/100 г ЛРС |            |
|----------|-----------------------|--|------------|
|          |                       | I сбора  | III сбора  |
| 1.       | Эфирное масло         | 0,23±0,05  | 0,47±0,08  |
| 2.       | Фарнезен              | 17,8 ±0,7  | 13,6 ±0,6  |
| 3.       | α-Бизаболол           | 7,1 ±0,4   | 13,8 ±0,7  |
| 4.       | α-Бизабололоксид А    | 48,5 ±1,4  | 159,2 ±9,2 |
| 5.       | α-Бизабололоксид В    | 26,6 ±1,1  | 73,5 ±4,6  |
| 6.       | α-Бизабололоксид А    | 28,6 ±1,8  | 55,9 ±2,9  |
| 7.       | Камазулен             | 5,8 ±0,4   | 23,8 ±1,6  |
| 8.       | Цис-ен-ин-дициклоэфир | 34,2 ±2,8  | 40,9 ±2,9  |

Т а б л и ц а     4  
Влияние вида сушки на содержание ЭМ и  
его компонентов в ЛРС

| №<br>п/п | Название              | Содержание ЭМ в мл/100 г<br>компонентов в мг/100 г ЛРС |             |            |
|----------|-----------------------|--|-------------|------------|
|          |                       | в снгом  | в масле     |            |
|          |                       |  | в тонн      | на солнце  |
| 1.       | Эфирное масло         | 0,38±0,05  | 0,58±0,07   | 0,47±0,07  |
| 2.       | Фарнезен              | 14,3 ±0,6  | 38,4 ±1,8   | 40,5 ±1,3  |
| 3.       | α-Бизаболол           | 9,5 ±0,3   | 24,7 ±0,6   | 12,9 ±0,7  |
| 4.       | α-Бизабололоксид А    | 144,8 ±5,2   | 201,6 ±10,5 | 147,0 ±8,4 |
| 5.       | α-Бизабололоксид В    | 63,6 ±2,9  | 74,7 ±4,1   | 69,6 ±2,5  |
| 6.       | α-Бизабололоксид А    | 47,4 ±2,9  | 69,0 ±3,2   | 58,7 ±2,1  |
| 7.       | Камазулен             | 13,6 ±0,6  | 27,0 ±1,5   | 18,5 ±1,1  |
| 8.       | Цис-ен-ин-дициклоэфир | 37,4 ±3,0  | 54,9 ±3,3   | 39,4 ±2,7  |

тощей из протолоса с листочками обертки и цветоносов. α-бизаболол мы нашли только в язычковых и трубчатых цветках.

Т а б л и ц а    5  
Распределение эфирного масла и его компонентов  
между частями цветочной корзинки

| №<br>п/п | Название                        | Эфирное масло в мл/100 г, компоненты<br>в мг/100 г |                     |   |
|----------|---------------------------------|--|---------------------|---|
|          |                                 | трубчатые<br>цветки                                | язычковые<br>цветки | цветоложи с<br>листочками<br>обертки и<br>цветоносами |
| 1.       | Эфирное масло                   | $0,78 \pm 0,11$                                    | $0,12 \pm 0,04$     | $0,55 \pm 0,09$                                       |
| 2.       | Фарнезен                        | $23,2 \pm 1,3$                                     | $26,9 \pm 1,5$      | $80,4 \pm 5,4$  |
| 3.       | $\alpha$ -Бизаболол             | $24,4 \pm 0,9$                                     | $7,0 \pm 0,4$       | отсутствует   |
| 4.       | $\alpha$ -Бизаболол-<br>оксид А | $326,0 \pm 16,3$                                   | $70,1 \pm 4,7$      | $36,6 \pm 1,8$  |
| 5.       | $\alpha$ -Бизаболол-<br>оксид В | $106,0 \pm 5,1$                                    | $29,5 \pm 1,5$      | $24,8 \pm 1,5$  |
| 6.       | $\alpha$ -Бизаболол-<br>оксид А | $100,1 \pm 4,9$                                    | $20,2 \pm 1,1$      | $14,5 \pm 0,8$  |
| 7.       | Хамазулен                       | $74,1 \pm 2,7$                                     | $10,6 \pm 0,5$      | $1,7 \pm 0,1$   |
| 8.       | Лис-ен-ин-ди-<br>циклофир       | $29,0 \pm 1,7$                                     | $16,7 \pm 1,1$      | $252,7 \pm 13,1$                                      |

### Выводы

1. Содержание эфирного масла и его компонентов в цветочной корзинке ромашки аптечной зависит от стадии развития. Количественное содержание эфирного масла,  $\alpha$ -бизаболола,  $\alpha$ -бизабололоксидов А и В,  $\alpha$ -бизаболонооксида А в одной корзинке повышается с развитием цветочной корзинки, достигает максимума в стадии полного цветения, а затем снижается.

2. По мере роста и развития цветочной корзинки содержание фарнезена в ней постепенно снижается. Максимальное его содержание в бутонах цветочных корзинок.

3. Качественный состав ЭМ ромашки аптечной на всех стадиях развития цветочных корзинок по наличию 7 основных компонентов остается постоянным.

4. Эфирное масло и его компоненты по отдельным частям цветочной корзинки распределяются неравномерно.

5. Накопление ЭМ и его компонентов в цветках ромашки аптечной продолжается даже во время сушки. Количественный сос-

тав ЭМ зависит от вида сушки сырья.

6. Для получения высококачественного ЛРС ромашки аптечной в производственных условиях первый сбор целесообразно провести в более ранний период цветения и сушить защищенном от солнца месте.

### Л и т е р а т у р а

1. Bohlmann F., Herbst P., Arndt C., Schönowsky H., Gleinig H. Über einen neuen Typ von Poyacetylenverbindungen aus verschiedenen Vertretern des Tribus Anthemideae L. "Chemische Berichte" 94, No 12, 1961, 3193-3216.
2. Isaac O., Schneider H., Eggenschwiller H. Beitrag zur Kenntnis des Kamillen-Bisabolols. "Deutsche Apotheker-Zeitung" 108, No 9, 1968, 293-298.
3. Kaiser H., Hasenmaier G. Untersuchungen über die Azylenbildung bei *Matricaria chamomilla* L. "Archiv der Pharmazie (Weinheim)" 289/61, No 12, 1956, 681-695.
4. Motl O., Felklova M., Lukes V., Jasicova M. Zur GC Analyse und zu chemischen Typen von Kamillenöl "Archiv der Pharmazie (Weinheim)" 310, No 3, 1977, 210-215.
5. Schantz M.V., Salonen L. Untersuchungen über den Ölgehalt und die Gesamtazylen-menge während der Entwicklung der Blütenkörbchen von in Finnland wildwachsender Kamille (*Matricaria chamilla* L) "Scientia pharmaceutica" 34, No 3, 1966, 177-185.
6. Schenck G., Krömming K.H. Öl- und Azylengehalt von *Matricaria chamomilla* in verschiedenen Blühstadien "Archiv der Pharmazie (Weinheim)" 289/61, No 4, 1956, 200-203.
7. Schilcher H., Novotny L., Ubik K., Motl O., Herout V. Structuraufklärung eines dritten Bisabololoxides aus *Matricaria chamomilla* L und massenspektrometrischer Vergleich der Bisabololoxide A, B und C. "Archiv der Pharmazie (Weinheim)" 309, No 3, 1976, 189-196.
8. Киселева Е.А., Рыбалко К.С., Лошкарев Н.М., Глазова М.В. Изменение содержания эфирного масла и хамазулена в ромашке аптечной (*Matricaria chamomilla* L) в течение вегетационного периода. "Фармация" 18, № 4, 1969, 34-39.



ÜBER DIE DYNAMIK EINIGER KOMPONENTEN  
DES ÄTHERISCHEN TEEKAMILLENÖLS

E.H. Arak, J.K. Tammeorg, U.J.Mäeorg

Z u s a m m e n f a s s u n g

Das quantitative Enthaltensein des ätherischen Teekamillenöls und seiner Komponenten (Farnesen,  $\alpha$ -Bisabolol,  $\alpha$ -Bisabolonoxid A,  $\alpha$ -Bisaboloxide A und B, Chamazulen, cis-En-In-Dicycloäther) im Blütenstand hängt vom Entwicklungsstadium des Blütenstands ab. Der qualitative Bestand verändert sich nicht. Das Enthaltensein des ätherischen Öls, des  $\alpha$ -Bisabolols,  $\alpha$ -Bisabolonoxides A, der  $\alpha$ -Bisaboloxide A und B erreicht den Höhepunkt während der vollständigen Blütezeit, dann aber sinkt wieder. Maximal ist das Enthaltensein des Farnesens in der Ausbrechenperiode des Blütenstands.

Die Aufteilung des ätherischen Öls und seiner Komponenten in einzelnen Blütebestandteilen ist ungleich. Ihre Akkumulation findet auch beim Abtrocknen statt. Beim wiederholten Sammeln der Droge verschlechtert sich der Bestand des ätherischen Öls nicht.

Für die Bestimmung des ätherischen Öls wurde die Modifikation der Apparatur des Arzneibuches benutzt, für die Bestimmung der Komponenten des ätherischen Öls aber die Methode der Gaschromatographie.

## ВЛИЯНИЕ ПАВ НА ПРОЦЕСС ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ЦВЕТКОВ РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ И БЕЗЪЯЗЫЧКОВОЙ

Л. Кириш

Изучение методов приготовления лекарств дает возможность выработать эффективные, быстрые и экономичные методы.

Многие трудно растворимые или нерастворимые в воде лекарственные вещества образуют в присутствии ПАВ солюбилизаты, т.е. гомогенные прозрачные жидкости, сохраняющие свою гомогенность иногда довольно длительное время. В связи с этим они гарантируют при употреблении точное дозирование нерастворимых солюбилизированных веществ /2, 8-13, 15/.

ПАВ способствуют часто и экстрагированию труднорастворимых компонентов из растительного сырья. Многие компоненты экстрагируются в присутствии ПАВ быстрее, полностью и с меньшим количеством экстрагента /11-14/.

В настоящей работе изучена возможность применения ПАВ при экстрагировании цветков ромашки аптечной - *Matricaria recutita* L. (*M. chamomilla* L.), и ромашки безъязычковой - *Matricaria matricarioides* (Less.) Port./*M. discoidea* D.C., *M. suaveolens* (Pursh) Buchen., *Compositae* и выяснено их действие на экстрагирование кумаринов и флавоноидов.

### Экспериментальная часть

Приготавливали экстенпоральные водные вытяжки (настои) из цветков ромашки аптечной и безъязычковой 1:20 по ГФХ с добавкой ПАВ и без нее.

В качестве ПАВ использовали твин - 80 в концентрациях 0,5%, 0,2%, 0,1%, 0,05% и 0,02%. Твин - 80 растворяли в воде при умеренном нагревании, и полученный раствор добавляли к растительному сырью только после охлаждения.

Коэффициент водопоглощения для использованного сырья был равен 4,7.

Полученные вытяжки сразу же подвергали анализу. Определение кумаринов и флавоноидов проводилось по методам Прокопенко-Тарасенко /5/, Мурри /4/ и Беликов-Шрайбера /1/. Методику приспособляли к условиям опытов данной работы.

Для фотоэлектроколориметрических и спектрофотометрических определений использовали ФЭК-Н-54 и СФ-4А.

#### Методика анализа

Для одного анализа готовят вытяжку из цветков ромашки 1:20 - 100 мл. Для трех параллельных опытов берут по 30 мл изучаемой вытяжки.

К 30 мл вытяжки добавляли 4 мл 17%-ого раствора основного ацетата свинца, нагревали до кипения и кипятили 3 мин. Сразу же процеживали и остаток отжимали. Для осаждения избытка свинца добавили 0,4 г натрия дигидрофосфата, вновь нагревали до кипения и кипятили 3 мин. После охлаждения центрифугировали или оставляли для осаждения осадка на другой день и фильтровали.

Для изолирования кумаринов полученный фильтрат повторно взбалтывался с хлороформом (3 ... 4 раза по 20 мл), пока хлороформ не становился бесцветным. Соединенные хлороформные извлечения высушивали безводным сульфатом натрия (0,5 г), процеживали и хлороформ удаляли. Остаток растворяли в 6 мл 95%-ного спирта, добавили 10 мл 0,1 н. раствора едкого натра, нагревали на водяной бане при 70° 5 мин., охлаждали, фильтровали и, промывая фильтр, доводили объем фильтрата спиртом до 16 мл. Добавлялось 4 мл диазореактива и определялась оптическая плотность полученного желтого до оранжевого цвета раствора после 10-15 мин. при длине волны 455 нм в кюветах, толщиной слоя 3 мм. Если окраска была слишком интенсивной, раствор разводили 1:2 до 1:5. Для разведения раствора добавили смесь из 6 частей 95%-ного спирта и 10 частей 0,1 н. раствора едкого натра.

Оптическая плотность раствора кумаринов определялась по литературным данным /3/ при длине волны 540 нм зеленым светофильтром № 5. Нами экспериментально выяснено, что подходящим является синий светофильтр № 3, длиной волны 455 нм (рис. 1).

Для получения калибровочного графика 0,1000 г кумарина растворяли в 50 мл мерной колбе в 95%-ном спирте и довели объем раствора спиртом до метки. 1 мл раствора содержит 2 мг кумарина. Полученный раствор отмеривался 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 и 1,0 мл, добавлялся 95%-ный спирт до 6 мл, 10 мл 0,1 н. раствора едкого натра и 4 мл диазореактива. Оптическая плотность растворов определялась через 10-15 мин.

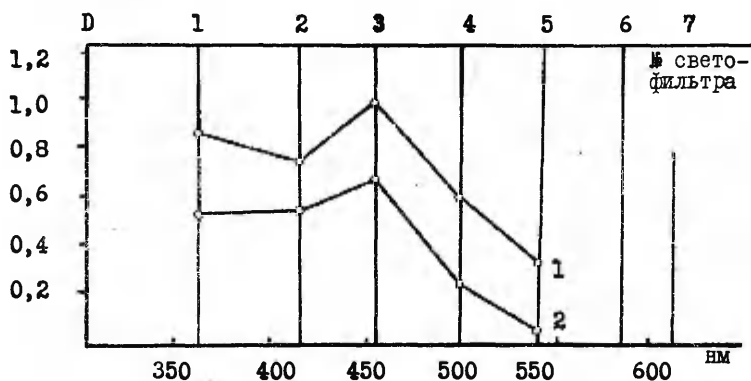


Рис. 1. Зависимость оптической плотности раствора кумарина от длины волны светофильтров.  
1 - раствор кумарина; 2 - настой ромашки.

Флавоноиды определялись в освобожденном от кумаринов водном растворе. Раствор флавоноидов нагревали на водяной бане для удаления хлороформа, охлаждали и доводили дистиллированной водой до 30 мл.

Из полученного раствора отмеривалось для параллельных опытов по 4 мл, добавлялось до 20 мл дистиллированной воды, затем 5 мл 2%-ного раствора алюминия хлорида и 1,2 г кристаллического натрия ацетата. Оставляли на 2 часа в темном месте, фильтровали и определяли оптическую плотность фильтра при длине волны 415 нм (фиолетовый светофильтр № 2) и в кюветах, толщиной слоя 50 мм. Определение оптической плотности можно проводить и спектрофотометрически при длине волны 420 нм.

Для получения калибровочного графика флавоноидов 0,0100 г рутина (ГФ X, 1968, с. 599) растворяли в 50 мл мерной колбе в 95%-ном спирте при нагревании на водяной бане. После охлаждения объем раствора доводили тем же спиртом до метки. 1 мл раствора содержит 0,2 мг рутина. Раствор устойчив при хранении в закрытой склянке в темном месте при комнатной температуре в течение 1 мес. /6, 7/.

Из полученного раствора отмеривалось 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 и 1,0 мл, доводилось дистиллированной водой до 20 мл, добав-

# ИЗВЕСТИЕ

О содержании кумаронов и флавонидов в листовых ромашках аптечной  
в зависимости от концентрации титл-50 в экстракте

| № | Составитель                  | Содержание кумаронов |        | Содержание флавонидов |        |
|---|------------------------------|----------------------|--------|-----------------------|--------|
|   |                              | мг %                 | вотн % | мг %                  | вотн % |
| 1 | Аптечная ромашка             | 1,28 ± 0,0222        | 1,74   | 1,36 ± 0,0150         | 1,10   |
| 2 | 0,02% водный раствор титл-50 | 1,24 ± 0,0189        | 1,52   | 0,82 ± 0,0107         | 1,30   |
| 3 | 0,05% "                      | 1,36 ± 0,0106        | 1,48   | 0,98 ± 0,0094         | 0,96   |
| 4 | 0,10% "                      | 1,47 ± 0,0509        | 2,10   | 1,44 ± 0,0095         | 0,66   |
| 5 | 0,20% "                      | 1,46 ± 0,0314        | 2,10   | 1,42 ± 0,0058         | 0,41   |
| 6 | 0,50% "                      | 1,36 ± 0,0091        | 0,67   | 1,46 ± 0,0234         | 1,60   |

Т а б л и ц а 2

Содержание кумаринов и флавоноидов в настоях ромашки в зависимости от разности исходного образца сырья

| № п/п | экстракт                | Р. аптечная № 1      |                   | Р. аптечная № 2      |                   |
|-------|-------------------------|----------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
|       |                         | кумаринов            | флавоноидов       | кумаринов            | флавоноидов       |
|       |                         | $M \pm m$            | $M \pm m$         | $M \pm m$            | $M \pm m$         |
| 1     | дистил. вода            | $1,38 \pm 0,0223$    | $1,36 \pm 0,0150$ | $1,60 \pm 0,0280$    | $1,66 \pm 0,0120$ |
| 2     | 0,1% раствор<br>теин-80 | $1,47 \pm 0,0309$    | $1,54 \pm 0,0095$ | $1,58 \pm 0,0173$    | $1,72 \pm 0,0304$ |
| <hr/> |                         |                      |                   |                      |                   |
|       |                         | Р. безъязычковая № 1 |                   | Р. безъязычковая № 2 |                   |
|       |                         | кумаринов            | флавоноидов       | кумаринов            | флавоноидов       |
|       |                         | $M \pm m$            | $M \pm m$         | $M \pm m$            | $M \pm m$         |
| 1     | дистил. вода            | $1,31 \pm 0,0210$    | $1,05 \pm 0,0188$ | $1,33 \pm 0,0231$    | $0,60 \pm 0,0150$ |
| 2     | 0,1% раствор<br>теин-80 | $1,44 \pm 0,0088$    | $1,23 \pm 0,0245$ | $1,38 \pm 0,0022$    | $0,44 \pm 0,0050$ |

длалось 5 мл 2% раствора алюминия хлорида и 1,2 г кристаллического натрия ацетата. Оставляли на 2 часа в темном месте, фильтровали и определяли оптическую плотность фильтрата.

Средние данные опытов приведены в таблицах 1 и 2 и на рис. 2.

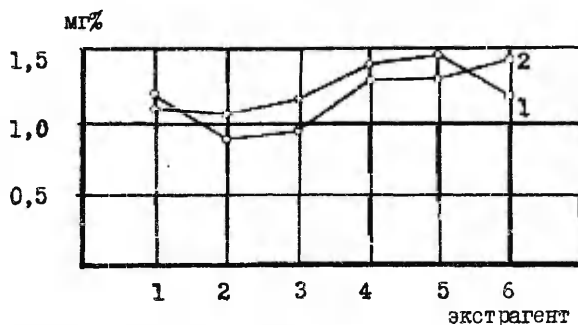


Рис. 2. Содержание кумаринов и флавоноидов в настоях ромашки аптечной в зависимости от концентрации твин-80 в экстрагенте (см. табл. 1). 1 - кумарины; 2 - флавоноиды.

Из представленных в таблице данных следует, что при присутствии твина-80 в экстрагенте в количестве 0,1 ..... 0,2% содержание кумаринов в настое увеличивается около 15,6% и содержание флавоноидов около 5,9% по сравнению с содержанием кумаринов и флавоноидов в чисто водном настое.

Опыты показали (см. табл. 2), что содержание как кумаринов, так и флавоноидов в настоях во многом зависит от исходного сырья. Разные образцы ромашки аптечной и безязычковой давали вытяжки разного качества.

## В ы в о д ы

1. Изучена возможность применения ПАВ при изготовлении настоев ромашки аптечной и безязычковой.

2. Выработана подходящая методика комплексного определения кумаринов и флавоноидов в водных извлечениях ромашки аптечной и безязычковой в присутствии твин-80.

### Литература

1. Беликов В.В., Шрайбер М.С. - "Фармация", 1970, I, 66-72.
2. Глузман М.Х., Чистякова Л.Н., Дашевская Б.И., Заславская Р.Г., Ляшенко С.С. - "Фармация", 1968, 4, II-18.
3. Маххамова Х.Ф. Дисс. канд. фарм. н., 1974, 92-93.
4. Мурри И.К. Витаминные ресурсы и их использование. М., 1959, 4, 195-206.
5. Прокопенко А.П., Тарасенко А.А. - "Фармацевтич.ж.", 1962, 6, 18-23.
6. Сивицкая О.К., Рубинская В.Г. - "Фармация", 1978, 5, 82-83.
7. Сивицкая О.К., Рубинская В.Г., Кулешова М.И., Гусева Л.Н. - "Фармация", 1977, 2, 81-82.
8. Ellö, I. - "Die Pharmazie" 1962, 8, 444-446.
9. Ellö, I. ibid. 1961, 8, 415-420.
10. Küttel, D. "Acta Pharmac. Hung." 1970, 6, 285-286.
11. Mihailova, D., Minkov, E., Trandafiloff, T. "Die Pharmazie" 1966, 8, 483-485; 10, 611-613.
12. Mihailova, D., Minkov, E., Trandafiloff, T. ibid. 1965, 2, 103-106.
13. Mihailova, D., Minkov, E., Trandafiloff, T. ibid. 1964, 2, 141-145; 12, 757-761.
14. Penova, M., Trandafiloff, T. "Die Pharmazie" 1971, 8, 489-490.
15. Regdon-Kiss, E. "Die Pharmazie" 1963, 11, 755-762.



# WIRKUNG DER OBERFLÄCHENAKTIVEN SUBSTANZEN AUF DIE EXTRAKTIONSPROZESSE DER KAMILLENBLÜTEN

L.A. Kirsch

## Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wurden Kamillenaufgüsse experimentell untersucht (als Droge - die Blüten der *Matricaria recutita* L. und *Matricaria matricarioides* (Less.) Port.). Man verfertigte die Auszüge extemporal 1:20 mit Wasser und mit Tween 80-Lösungen (0,02, 0,05, 0,1, 0,2 und 0,5 % Tw. 80).

Der Gehalt der Kumarine und Flavonoide wurde in den Auszügen fotoelektrokolorimetrisch und spektrofotometrisch bestimmt.

Es wurde festgestellt, daß Tween 80 in 0,1...0,2 % Lösungen den Gehalt der Kumarine um 15,6 % und der Flavonoide um 5,9 % erhöht.

## КУМАРИНЫ ПАСТУШЬЕЙ СУМКИ

С. Юриссон

Пастушья сумка (*Capsella bursa pastoris* (L.) Medic.) содержит холин, ацетилхолин, органические кислоты, сапонины, витамины, флавоноиды и др. вещества /2, 5, 6, 7/, но данные о содержании кумаринов отсутствуют. Литературные данные /3, 4/ свидетельствуют о том, что природные кумарины обладают гипотензивными, бактерицидными, противоопухолевыми, антикоагулянтными и другими свойствами. Установлено, что свежее сено содержит кумарины в незначительном количестве, а при порче сена содержание кумаринов сильно увеличивается. Предполагается, что превращение осуществляется при участии плесневых грибов /1, 8/.

Целью нашей работы явилось определение содержания кумаринов в пастушья сумке в течение вегетационного периода в нормальном и пораженном грибом растении и идентификация.

Для количественного определения кумариновых производных применяли метод Никонova /3/. Было выделено кристаллическое вещество, которое хорошо растворяется в хлороформе, этаноле, в эфире, хуже - в петролейном эфире, этилацетате, с.т. пл. 63...68°.

Выяснилось, что максимум кумариновых производных в траве пастушья сумки отмечается во время цветения (0,05%). До начала цветения и при образовании семян содержание кумаринов составляло, соответственно, 0,033 и 0,04%. В траве, пораженной грибом, содержание кумариновых производных было повышенным от 0,58 до 0,75%.

Для определения качественного состава кумаринов в траве пастушья сумки применялся метод бумажной хроматографии /4/. При хроматографировании в качестве подвижной системы служили: Н-бутанол, уксусная кислота, вода (4 : 1 : 5) и 15%-ный раствор уксусной кислоты. Хроматограммы просматривались в ультрафиолетовом свете и смачивались 10%-ным спиртовым раствором едкого калия. После высушивания проявляли диазотированным раствором сульфаниловой кислоты.

При применении первой системы пятна были оранжево-розо-

того цвета с Rf 0,46 и Rf 0,75. При применении второй системы показатели были немного увеличены Rf 0,5 и Rf 0,82. При сопоставлении с показателями по величине Rf по свечению в УФ и по окрашиванию проявителями установлено, что Rf 0,75 и Rf 0,82 соответствуют кумарину а Rf 0,46 и Rf 0,5 соответствуют дикумарину.

### Выводы

1. Было установлено наличие кумариновых производных в траве пастушьей сумки, нормальной и пораженной грибом. С помощью хроматографии на бумаге были идентифицированы кумарин и дикумарин.

2. При проведении количественного определения кумариновых производных выяснилось, что в траве во время цветения содержится 0,03-0,05%, а в траве, пораженной грибом, содержание кумариновых производных резко повышается 0,58-0,75%.

### Литература

1. Андреев Г.В. Успехи современной биологии. 1951, 32, I /4/, 89-100.
2. Атлас лекарственных растений СССР. М., 1962, с. 410.
3. Никонов Г.К. - "Аптечное дело", 1965, № 3, с. 62-70.
4. Никонов Г.К. - Медицинская промышленность СССР. 1958, № 3, 16-21.
5. Сацыперова И.Ф. - "Растит. ресурс", 1968, № 4, с. 570.
6. Юриссон С.М., Юриссон Э.Э. - "Аптечное дело", 1966, № 4, 36-39.
7. Юриссон С.М. - "Фармация", 1973, № 5, с. 34-35.
8. Юриссон С.М. - "Фармация", 1976, № 4, с. 66-67.
9. Campbell H.A., а. Link K.P. - "Journal Biological chemistry" 1940, 138, 21.

COUMARINE SUBSTANCES OF CAPSELLA BURSA  
PASTORIS (L.) MEDIC

S.M. Jyrisson

S u m m a r y

The content of coumarin and dicoumarin in *Capsella bursa pastoris* herb was estimated by paperchromatography. Quantitative analysis showed that the content of coumarine substances was 0.05 - 0.5% in normal herbs and 0.5 - 0.75% in herbs infected by fungus.

ВЛИЯНИЕ УДАЛЕНИЯ ЦВЕТКОВ НА СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ  
ДУРМАНА ОБЫКНОВЕННОГО, КУЛЬТИВИРОВАННОГО В  
СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ ЭСТОНСКОЙ ССР

В. Коппель, Й. Таммеорг

Удалением цветков растений семейства пасленовых (*Solanaceae*) удлиняется вегетационный период, увеличивается рост и возрастает содержание алкалоидов /5/. Воздействие удаления цветков растений рода дурмана (*Datura*) исследовали многие авторы /3, 4, 6, 7/. Но отсутствуют данные о соотношении гиосциаммина и скополамина в этих растениях и об изменении количества этих алкалоидов в течение вегетационного периода, выяснению этих вопросов посвящена данная работа.

Экспериментальная часть

Семена дурмана обыкновенного (*Datura stramonium* var. *stramonium*) высевали в посевные ящики в третьей декаде апреля. До прорастания семян посевные ящики хранили в термостате при температуре  $+30^{\circ}$ , а затем ставили в парнике для получения рассады.

Полевые опыты были заложены вблизи города Таллина на нейтральной дерново-известняковой почве ( $\text{pHCl} = 6,6 - 6,9$ ). Почву обрабатывали предварительно при глубокой вспашке и вносили по два кг компоста и 30 г минеральных удобрений (N, P, K + микроэлементы) на  $\text{м}^2$ . После потепления погоды (в конце мая или начале июня) рассаду дурмана пересаживали в грунт на делянки, расстояние между которыми 60 см. В течение вегетационного периода удаляли сорняки и проводили рыхление почвы между рядами. После развития 5-7 листьев в почву вносили дополнительно 30 г полных минеральных удобрений и после сукцессии растений 10 г аммиачной селитры на  $\text{м}^2$  площади.

Для опытов выбирали соответствующее количество растений, имеющих одинаковое развитие. С опытных растений раз в неделю удаляли все бутоны цветков перед распусканием. Листья растений собирали утром в сухую погоду с 9 до 10 часов. В случае необходимости собирали также корни растений.

Растительный материал высушивали в термостате при температуре  $+50^{\circ}\text{C}$  до постоянного веса, помещали в полиэтилено-

вые мешки и хранили в эксикаторе на  $\text{CaCl}_2$  в защищенном от света месте.

Для определения количества алкалоидов в течение вегетационного периода в 1968 году еженедельно собирали листья и корни от десяти опытных и контрольных растений начиная с 6-ой вегетационной недели. Содержание гиосциаминна и скополамина указаны в таблицах 1 и 2. Содержание алкалоидов и урожайность листьев только с 18-ой вегетационной недели с 1966 г по 1970 г указаны в таблицах 3 и 4. Алкалоиды вывели из сухого сырья и очистили по методу определения алкалоидов Г.Ф.Х. /1/. Из очищенной хлороформной вытяжки алкалоиды отделили методом электрофореза (бумага "М", обратный буфер  $\text{pH} = 9$ , напряжение 600 вольт, сила тока 300 миллиампер, время разделения 50 минут). Электрофореграммы проявляли реактивом Драгендорфа в модификации Траверта. Идентифицировали алкалоиды элюировали с уксусным ангидридом. Оптическую плотность элюатов определялась электрофотоколориметром ФЭК-М с синим светофильтром /8, 9/. Границы действия закона Ламберта - Бэра при гиосциамине с 0,4 по 50 мкг и при скополамина - с 0,8 по 100 мкг (толщина кюветы 5 мм).

#### Результаты опытов и обсуждение

Содержание гиосциаминна в листьях контрольных растений дурмана обыкновенного (с цветками) сравнительно высокое во время начала периода цветения (II - вегетационная неделя) и максимальное - во время образования плодов (18 - вегетационная неделя). Наивысшее содержание скополамина в листьях отмечалось на 10-й и 18-й вегетационной неделе и в корнях - на II-й и 18-й неделе. Позже содержание алкалоидов в листьях дурмана быстро снижалось. В корнях гиосциаминна определялось больше, чем в листьях. Результаты проведенных опытов в большинстве совпадали с литературными данными /10/.

Значительно изменилось содержание алкалоидов тех растений, у которых были удалены цветки (см. таблицы 1 и 2). В листьях этих растений алкалоидов имелось больше. Содержание гиосциаминна начиная с 10-й вегетационной недели резко увеличилось, достигая максимума на 18-й неделе. После 18-й недели отмечалось понижение и новый максимум на 23-й неделе. Гораздо сильнее изменялось содержание скополамина. Количество скополамина постепенно возрастает, достигая максимума на 12-й

неделе, затем следует максимум на 20-й неделе и новый максимум в конце вегетационного периода. В корнях подопытных растений максимальное содержание гиосциаммина также наблюдалось на 18-й неделе, а максимальное содержание скополамина — на 15-й неделе. В корнях подопытных растений сильного падения и нового максимума обоих алкалоидов в конце вегетационного периода не обнаружено.

Сумма гиосциаммина и скополамина в листьях и корнях контрольных растений достигает первого максимума на II-й вегетационной неделе (в начале цветения), но абсолютный максимум наблюдался на 18-й неделе (образование плодов), после 19-й недели начинается резкое падение.

Сумма алкалоидов в листьях подопытных растений показывает три максимума: на 12-й неделе, на 18-й неделе и абсолютного максимума достигает в конце вегетационного периода, а сумма алкалоидов в корнях подопытных растений — на II-й, 15-й и 21-й вегетационной неделе.

Развитие, урожайность и алкалоидность нормальных и с удаленными цветками растений на 18-й вегетационной неделе исследовались в течение пяти лет (см. таблицы 3 и 4). Высота подопытных растений всегда превышала рост контрольных растений в среднем в 1,7 раз, их листья выросли значительно крупнее и прикреплялись к стеблям плотнее. Урожай листьев подопытных растений превышал в среднем 2,4 раза, колеблясь от 5,3 ц/га до 7,5 ц/га, что оказалось близким к среднему урожаю листьев дурмана обыкновенного с гектара в Украинской ССР и Краснодарском крае /2/.

С каждым годом содержание алкалоидов в листьях подопытных растений превышало содержание алкалоидов в контрольных растениях (гиосциамин в среднем 158%, скополамин 161%, сумма алкалоидов 159%). Урожай алкалоидов с гектара увеличился в среднем на 3,8 раза. Прирост достигал до 2,5 кг алкалоидов на один га.

Проведенные исследования показали, что при удалении цветков возникают существенные изменения в развитии и в метаболизме алкалоидов в дурмане обыкновенном. Активизируются ферментные системы биосинтеза алкалоидов, ускоряется образование новых цветков и листьев, а также рост растений. Удаление цветков стабилизирует содержание алкалоидов в листьях, особенно в конце вегетационного периода. Урожай алкалоидов с гектара увеличивается до пяти раз.

Т а б л и ц а    I

Содержание алкалоидов в листьях дурмана в течение вегетационного периода

| Продол-<br>житель-<br>ность<br>вегета-<br>ция в<br>неделях | Содержание в ‰ на абсолютно сухой вес |                            |  |                             |                            |  |   |       |   |       |   |       |
|--|---------------------------------------|----------------------------|--|-----------------------------|----------------------------|--|---|-------|---|-------|---|-------|
|  | контрольные растения                  |                            |  | опытные растения            |                            |  |   |       |   |       |   |       |
|  | глюкоциамин                           | скополамин                 | сумма глюкоци-<br>амина и скопо-<br>ламина | глюкоциамин                 | скополамин                 | сумма глюкоци-<br>амина и скопо-<br>ламина |   |       |   |       |   |       |
|  | ± 0,95<br>+0,000<br>-0,002            | ± 0,95<br>+0,000<br>-0,003 | ± 0,95<br>+0,001<br>-0,004                 | ± 0,95<br>+0,0003<br>-0,002 | ± 0,95<br>+0,001<br>-0,003 | ± 0,95<br>+0,002<br>-0,005                 |   |       |   |       |   |       |
|  | I                                     | :                          | 2  | :                           | 3                          | :  | 4 | :     | 5 | :     | 6 | :     |
| 6  | :                                     | 0,029                      | :  | 0,032                       | :                          | 0,061                                      | : | 0,034 | : | 0,055 | : | 0,089 |
| 7  | :                                     | 0,032                      | :  | 0,030                       | :                          | 0,062                                      | : | 0,051 | : | 0,062 | : | 0,113 |
| 8  | :                                     | 0,054                      | :  | 0,042                       | :                          | 0,096                                      | : | 0,086 | : | 0,072 | : | 0,158 |
| 9  | :                                     | 0,064                      | :  | 0,041                       | :                          | 0,105                                      | : | 0,074 | : | 0,063 | : | 0,137 |
| 10   | :                                     | 0,076                      | :  | 0,080                       | :                          | 0,156                                      | : | 0,179 | : | 0,091 | : | 0,270 |
| 11   | :                                     | 0,142                      | :  | 0,051                       | :                          | 0,193                                      | : | 0,191 | : | 0,116 | : | 0,307 |
| 12   | :                                     | 0,093                      | :  | 0,037                       | :                          | 0,130                                      | : | 0,184 | : | 0,146 | : | 0,330 |
| 13   | :                                     | 0,056                      | :  | 0,024                       | :                          | 0,080                                      | : | 0,203 | : | 0,112 | : | 0,315 |
| 14   | :                                     | 0,079                      | :  | 0,021                       | :                          | 0,100                                      | : | 0,213 | : | 0,090 | : | 0,303 |
| 15   | :                                     | 0,086                      | :  | 0,025                       | :                          | 0,111                                      | : | 0,194 | : | 0,088 | : | 0,282 |
| 16   | :                                     | 0,061                      | :  | 0,047                       | :                          | 0,108                                      | : | 0,233 | : | 0,093 | : | 0,326 |
| 17   | :                                     | 0,118                      | :  | 0,035                       | :                          | 0,153                                      | : | 0,245 | : | 0,084 | : | 0,329 |
| 18   | :                                     | 0,235                      | :  | 0,082                       | :                          | 0,317                                      | : | 0,300 | : | 0,090 | : | 0,390 |
| 19   | :                                     | 0,189                      | :  | 0,075                       | :                          | 0,264                                      | : | 0,287 | : | 0,091 | : | 0,378 |
| 20   | :                                     | 0,078                      | :  | 0,018                       | :                          | 0,096                                      | : | 0,221 | : | 0,083 | : | 0,304 |
| 21   | :                                     | 0,032                      | :  | 0,010                       | :                          | 0,042                                      | : | 0,270 | : | 0,109 | : | 0,379 |
| 22   | :                                     | 0,025                      | :  | 0,008                       | :                          | 0,033                                      | : | 0,262 | : | 0,122 | : | 0,384 |
| 23   | :                                     | 0,012                      | :  | 0,008                       | :                          | 0,020                                      | : | 0,301 | : | 0,133 | : | 0,434 |



Т а б л и ц а   2

Содержание алкалоидов в корнях дурмана в течение вегетационного периода

| Продол-<br>жительность<br>вегета-<br>ция в<br>неделях | Содержание в % на абсолютно сухой вес |                            |                            |                            |                            |                            |
|---|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|   | контрольные растения                  |                            |                            | опытные растения           |                            |                            |
|   | глюкоциамин                           | скополамин                 | сумма                      | глюкоциамин                | скополамин                 | сумма                      |
|   | £ 0,95<br>±0,000<br>-0,004            | £ 0,95<br>±0,000<br>-0,003 | £ 0,95<br>±0,000<br>-0,005 | £ 0,95<br>±0,001<br>-0,004 | £ 0,95<br>±0,001<br>-0,004 | £ 0,95<br>±0,002<br>-0,008 |
| I   | 2                                     | 3                          | 4                          | 5                          | 6                          | 7                          |
| 6   | 0,061                                 | 0,028                      | 0,089                      | 0,078                      | 0,035                      | 0,113                      |
| 7   | 0,070                                 | 0,030                      | 0,100                      | 0,086                      | 0,040                      | 0,126                      |
| 8   | 0,081                                 | 0,030                      | 0,111                      | 0,110                      | 0,052                      | 0,162                      |
| 9   | 0,103                                 | 0,039                      | 0,142                      | 0,191                      | 0,060                      | 0,251                      |
| 10  | 0,184                                 | 0,040                      | 0,224                      | 0,201                      | 0,065                      | 0,266                      |
| 11  | 0,176                                 | 0,069                      | 0,245                      | 0,233                      | 0,067                      | 0,300                      |
| 12  | 0,098                                 | 0,035                      | 0,133                      | 0,127                      | 0,087                      | 0,214                      |
| 13  | 0,066                                 | 0,014                      | 0,080                      | 0,191                      | 0,095                      | 0,286                      |
| 14  | 0,078                                 | 0,020                      | 0,098                      | 0,235                      | 0,165                      | 0,400                      |
| 15  | 0,085                                 | 0,022                      | 0,107                      | 0,267                      | 0,175                      | 0,442                      |
| 16  | 0,081                                 | 0,030                      | 0,111                      | 0,270                      | 0,125                      | 0,395                      |
| 17  | 0,123                                 | 0,034                      | 0,157                      | 0,245                      | 0,110                      | 0,355                      |
| 18  | 0,294                                 | 0,085                      | 0,379                      | 0,306                      | 0,115                      | 0,421                      |
| 19  | 0,201                                 | 0,024                      | 0,225                      | 0,252                      | 0,120                      | 0,372                      |
| 20  | 0,065                                 | 0,025                      | 0,110                      | 0,245                      | 0,095                      | 0,340                      |
| 21  | 0,047                                 | 0,015                      | 0,062                      | 0,282                      | 0,118                      | 0,400                      |
| 22  | 0,029                                 | 0,010                      | 0,039                      | 0,240                      | 0,125                      | 0,365                      |
| 23  | 0,020                                 | 0,005                      | 0,025                      | 0,198                      | 0,122                      | 0,320                      |

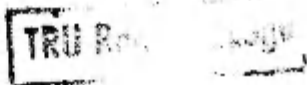
Распределение растений, количества и плодородности их семян  
по районам на абсолютной сухой массе на 10 вегетационной недели

| Год       | Данные растений |         | Без учета листьев |         | Без учета листьев в г |         | Среднее значение в % |         | Среднее значение плодородности в % |         | Среднее значение плодородности |         |
|-----------|-----------------|---------|-------------------|---------|-----------------------|---------|----------------------|---------|------------------------------------|---------|--------------------------------|---------|
|           | число растений  | площадь | контроль          | опытные | контроль              | опытные | контроль             | опытные | контроль                           | опытные | контроль                       | опытные |
| 1966      | 37              | 102     | 13,1              | 30,7    | 0,181                 | 0,312   | 0,067                | 0,114   | 0,248                              | 0,436   | 0,248                          | 0,436   |
| 1967      | 17              | 95      | 12,6              | 28,3    | 0,169                 | 0,284   | 0,055                | 0,120   | 0,224                              | 0,404   | 0,224                          | 0,404   |
| 1968      | 40              | 86      | 8,6               | 22,3    | 0,235                 | 0,300   | 0,083                | 0,090   | 0,317                              | 0,390   | 0,317                          | 0,390   |
| 1969      | 48              | 78      | 6,3               | 21,5    | 0,178                 | 0,332   | 0,061                | 0,126   | 0,235                              | 0,458   | 0,235                          | 0,458   |
| 1970      | 34              | 83      | 8,7               | 21,7    | 0,152                 | 0,276   | 0,072                | 0,092   | 0,254                              | 0,368   | 0,254                          | 0,368   |
| в среднем | 33              | 89      | 10,5              | 24,9    | 0,191                 | 0,301   | 0,067                | 0,108   | 0,258                              | 0,409   | 0,258                          | 0,409   |

|  | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | XIII | XIV | XV | XVI | XVII | XVIII | XIX | XX | XXI | XXII | XXIII | XXIV | XXV | XXVI | XXVII | XXVIII | XXIX | XXX | XXXI | XXXII | XXXIII | XXXIV | XXXV | XXXVI | XXXVII | XXXVIII | XXXIX | XL | XL I | XL II | XL III | XL IV | XL V | XL VI | XL VII | XL VIII | XL IX | XL X | XL XI | XL XII | XL XIII | XL XIV | XL XV | XL XVI | XL XVII | XL XVIII | XL XIX | XL XX | XL XXI | XL XXII | XL XXIII | XL XXIV | XL XXV | XL XXVI | XL XXVII | XL XXVIII | XL XXIX | XL XXX | XL XXXI | XL XXXII | XL XXXIII | XL XXXIV | XL XXXV | XL XXXVI | XL XXXVII | XL XXXVIII | XL XXXIX | XL XL | XL XL I | XL XL II | XL XL III | XL XL IV | XL XL V | XL XL VI | XL XL VII | XL XL VIII | XL XL IX | XL XL X | XL XL XI | XL XL XII | XL XL XIII | XL XL XIV | XL XL XV | XL XL XVI | XL XL XVII | XL XL XVIII | XL XL XIX | XL XL XX | XL XL XXI | XL XL XXII | XL XL XXIII | XL XL XXIV | XL XL XXV | XL XL XXVI | XL XL XXVII | XL XL XXVIII | XL XL XXIX | XL XL XXX | XL XL XXXI | XL XL XXXII | XL XL XXXIII | XL XL XXXIV | XL XL XXXV | XL XL XXXVI | XL XL XXXVII | XL XL XXXVIII | XL XL XXXIX | XL XL XL | XL XL XL I | XL XL XL II | XL XL XL III | XL XL XL IV | XL XL XL V | XL XL XL VI | XL XL XL VII | XL XL XL VIII | XL XL XL IX | XL XL XL X | XL XL XL XI | XL XL XL XII | XL XL XL XIII | XL XL XL XIV | XL XL XL XV | XL XL XL XVI | XL XL XL XVII | XL XL XL XVIII | XL XL XL XIX | XL XL XL XX | XL XL XL XXI | XL XL XL XXII | XL XL XL XXIII | XL XL XL XXIV | XL XL XL XXV | XL XL XL XXVI | XL XL XL XXVII | XL XL XL XXVIII | XL XL XL XXIX | XL XL XL XXX | XL XL XL XXXI | XL XL XL XXXII | XL XL XL XXXIII | XL XL XL XXXIV | XL XL XL XXXV | XL XL XL XXXVI | XL XL XL XXXVII | XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL | XL XL XL XL I | XL XL XL XL II | XL XL XL XL III | XL XL XL XL IV | XL XL XL XL V | XL XL XL XL VI | XL XL XL XL VII | XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL IX | XL XL XL XL X | XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXXIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL I | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL II | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL III | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL V | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL VIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL IX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL X | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XVIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XIX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XX | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXI | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIII | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXIV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXV | XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XL XXVI |  |
|--|---|----|-----|----|---|----|-----|------|----|---|----|-----|------|-----|----|-----|------|-------|-----|----|-----|------|-------|------|-----|------|-------|--------|------|-----|------|-------|--------|-------|------|-------|--------|---------|-------|----|------|-------|--------|-------|------|-------|--------|---------|-------|------|-------|--------|---------|--------|-------|--------|---------|----------|--------|-------|--------|---------|----------|---------|--------|---------|----------|-----------|---------|--------|---------|----------|-----------|----------|---------|----------|-----------|------------|----------|-------|---------|----------|-----------|----------|---------|----------|-----------|------------|----------|---------|----------|-----------|------------|-----------|----------|-----------|------------|-------------|-----------|----------|-----------|------------|-------------|------------|-----------|------------|-------------|--------------|------------|-----------|------------|-------------|--------------|-------------|------------|-------------|--------------|---------------|-------------|----------|------------|-------------|--------------|-------------|------------|-------------|--------------|---------------|-------------|------------|-------------|--------------|---------------|--------------|-------------|--------------|---------------|----------------|--------------|-------------|--------------|---------------|----------------|---------------|--------------|---------------|----------------|-----------------|---------------|--------------|---------------|----------------|-----------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|-------------|---------------|----------------|-----------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|-------------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|---------------------|-------------------|----------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|---------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|-------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---|--|---------------------------------------|--|---|--|--|-------------------------------------|---------------------------------------|--|---|--|---------------------------------------|--|---|--|--|---------------------------------------|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|---|---|---|---|--|
|--|---|----|-----|----|---|----|-----|------|----|---|----|-----|------|-----|----|-----|------|-------|-----|----|-----|------|-------|------|-----|------|-------|--------|------|-----|------|-------|--------|-------|------|-------|--------|---------|-------|----|------|-------|--------|-------|------|-------|--------|---------|-------|------|-------|--------|---------|--------|-------|--------|---------|----------|--------|-------|--------|---------|----------|---------|--------|---------|----------|-----------|---------|--------|---------|----------|-----------|----------|---------|----------|-----------|------------|----------|-------|---------|----------|-----------|----------|---------|----------|-----------|------------|----------|---------|----------|-----------|------------|-----------|----------|-----------|------------|-------------|-----------|----------|-----------|------------|-------------|------------|-----------|------------|-------------|--------------|------------|-----------|------------|-------------|--------------|-------------|------------|-------------|--------------|---------------|-------------|----------|------------|-------------|--------------|-------------|------------|-------------|--------------|---------------|-------------|------------|-------------|--------------|---------------|--------------|-------------|--------------|---------------|----------------|--------------|-------------|--------------|---------------|----------------|---------------|--------------|---------------|----------------|-----------------|---------------|--------------|---------------|----------------|-----------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|-------------|---------------|----------------|-----------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|-------------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|---------------------|-------------------|----------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|---------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|-------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---|--|---------------------------------------|--|---|--|--|-------------------------------------|---------------------------------------|--|---|--|---------------------------------------|--|---|--|--|---------------------------------------|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|--|---|--|---|--|---|--|---|---|--|---|--|---|--|---|--|---|--|--|---|--|---|---|---|---|---|--|

## Литература

1. Государственная Фармакопея СССР, 10, изд., М., 1968, с. 297.
2. Илиева С. Лекарственные культуры. София, 1971, с. 113.
3. Таммеорг Й. Первый всесоюзный съезд фармацевтов (Сборник докладов), М., 1967, с. 52.
4. Hegnauer, R., Flück, H. *Pharmac. Acta Helvetiae*, 1949, B. 24, Nr. 1, S. 1-15.
5. Mothes, K., Romeike, A. in Ruhland, W. *Handbuch der Glanzphysiologie*, Berlin, 1958, Bd. 8, S. 1008, 1020, 1029.
6. Prasad, S. - *Journal of the American Pharm. Ass.*, 1948, vol. 37, p. 364.
7. Sievers, A.F. - *Journal of the American Pharm. Assoc.*, 1921, vol. 10, Nr. 9, p. 674.
8. Trabert, H. - *Naturwissenschaften*, 1956, B. 43, Nr. 15, S. 351.
9. Trabert, H. *Pharmaz. Zentralhalle*, 1954, B. 93, Nr. 7, S. 462.
10. Verzar-Petri, G. - *Die Pharmazie*, 1966, B. 21, Nr. 1, S. 48.



EINFLUSS DER BLÜTENENTFERNUNG DEN AUF ALKALOIDGEHALT  
DES IM BÜRDLICHEN GEBIET DER ESTHNISCHEN SSR  
KULTIVIERTEN STECHAPFELS

V. Koppel, J. Tammeorg

Z u s a m m e n f a s s u n g

Von einem Teil der in der Umgebung von Tallinn in der BSSR kultivierten Stechapfelpflanzen (*Datura stramonium* L. var. *stramonium* L.) wurden die Blüten kontinuierlich entfernt. Der Alkaloidgehalt wurde nach einer elektroforetisch-fotokolorimetrischen Methode bestimmt.

In den normalen Pflanzen wurde der maximale Gehalt an Alkaloiden während der Fruchtbildung (18. Vegetationswoche) festgestellt. In den Blättern der Pflanzen ohne Blüten ist der Alkaloidgehalt höher. Auch diese Pflanzen zeigen den maximalen Gehalt an Hyosyamin in den Blättern und Wurzeln in der 18. Vegetationswoche, wobei sich der maximale Gehalt an Scopolamin in den Blättern in der 12. und in den Wurzeln in der 15. Vegetationswoche aufweisen lässt. Maximaler Gesamtalkaloidgehalt in den Blättern der Pflanzen ohne Blüten wurde am Ende der Vegetationsperiode registriert. Bei den 5jährigen Versuchen überschritten die Pflanzen ohne Blüten in der 18. Vegetationswoche am Wachstum die normalen Pflanzen bis 1,7mal, wobei auch die Blätter größer waren. Die Blätterernte überstieg 2,4mal und der Gesamtalkaloidgehalt auf 1 ha 3,8mal die Ernte normaler Pflanzen.

О БИОСИНТЕЗЕ ТРОПАНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ В ДУРМАНЕ  
ОБЫКНОВЕННОМ В УСЛОВИЯХ УДАЛЕНИЯ ЦВЕТКОВ ПРИ  
АССИМИЛЯЦИИ РАДИОАКТИВНОГО УГЛЕРОДА

В. Коппель

При экспонировании алкалоидных растений в среде  $^{14}\text{CO}_2$ , часть ассимилированного радиоактивного углерода переходит в молекулы вторичных продуктов фотосинтеза - в алкалоиды. Задача данной работы определить: с какой скоростью приобретают алкалоиды гиосциамин и скополамин в дурмане обыкновенном (*Datura stramonium var. stramonium* L.) максимальную удельную радиоактивность и как изменяется удельная радиоактивность алкалоидов в листьях и корнях при удалении цветков.

Экспериментальная часть

Вегетационные опыты были поставлены в 1968 и 1969 году вблизи города Таллина. Контрольные и опытные растения, имеющие равный рост, выбирали до образования бутонов. С опытных растений удаляли 1-2 раза в неделю все бутоны цветков перед распусканием.

Для выполнения первой задачи надземные части опытных растений (цветки удалены) экспонировали на 14-й вегетационной неделе в герметичном боксе из оргстекла соответствующей конструкции /1/ в среде радиоактивной двуокиси углерода. Экспонирования проводили на поле в ясную погоду в течение 9-ти часов (с 9 до 18). Радиоактивность  $^{14}\text{CO}_2$  была 100 микрокури. Радиометрический контроль показал, что растения в течение 9 часов полностью усваивали имеющуюся в боксе  $^{14}\text{CO}_2$ . Листья экспонированных растений собирали в разные промежутки времени.

Для выполнения второй задачи проводили экспонирования контрольных (с цветками) и подопытных (цветки удалены) растений в аналогичных условиях в среде  $^{14}\text{CO}_2$  в разных вегетационных неделях начиная с пятой недели до конца вегетационного периода. При этом в каждом случае экспонированию подвергались листья суммарной площадью 15,0-15,5  $\text{дм}^2$ . По окончании экспозиции растения оставались на поле в течение 8-9

дней, после чего собирали листья и корни.

Растительный материал высушивали в термостате при  $+50^{\circ}\text{C}$ , измельчали и просеивали через сито с отверстиями 0,5 мм. Точную навеску (1-3 г) порошка мацерировали с 50 мл. 0,1 н  $\text{HCl}$  14-15 часов при взбалтывании. 40 мл мацерата выщелачивали в делительной воронке с 2 мл. 10% -  $\text{NH}_4\text{OH}$ , прибавляли 20 мл хлороформа и взбалтывали в течение 3 мин. Хлороформ отделяли от эмульсии центрифугированием и отливали обратно в делительную воронку. Хлороформный раствор алкалоидов профильтровывали через фильтровальную бумагу, предварительно смоченную хлороформом. В этой же делительной воронке повторили взбалтывание водного слоя еще 2 раза с 15 и 10 мл  $\text{CHCl}_3$ . Центрифугированные и профильтрованные хлороформные вытяжки соединяли с первым фильтратом. Хлороформ выпаривали на водяной бане и остаток растворяли в 2 мл хлороформа. Определенное количество (0,05-0,1 мл) хлороформного раствора алкалоидов и стандартные растворы атропина и скополамина наносили микропипеткой на хроматографическую бумагу "М". Алкалоиды отделяли методом электрофореза на бумаге, смоченной обратным буфером ( $\text{pH} = 9$ , напряжение 600 вольт, сила тока 300 миллиампера, градиент потенциала 19-20 в/см, время 50 мин). Высушенные электрофореграммы проявляли реактивом Драгендорфа в модификации Траберта /3; 4/. Пятна алкалоидов гиосциамина и скополамина вырезали из высушенных электрофореграмм, их радиоактивность определяли на установке УМФ-2 между двумя счетчиками типа СБТ-13 /2/. После этого пятна алкалоидов на бумаге вырезали и элюировали с уксусным ангидридом по методу Траберта /3/. Оптическая плотность элюатов определялась электрофотоколориметром ФЭК - М синим светофильтром (толщина кюветы 5 мм).

#### Результаты опытов и обсуждение

При экспонировании растений дурмана обыкновенного в среде  $^{14}\text{CO}_2$  алкалоиды гиосциамина и скополамин в листьях приобрели максимальную удельную радиоактивность на 16-й день после экспонирования. Начиная с 20-го дня удельная радиоактивность обоих алкалоидов снова падает. Удельная радиоактивность гиосциамина в общем выше, чем УР скополамина. Двукратное различие заметно на 8-й, 10-й день (см. табл. I).

Т а б л и ц а I  
Изменение удельной радиоактивности гиосциамина  
и скополамина в листьях дурмана после  
экспонирования в среде  $^{14}\text{CO}_2$

| Продолжитель-<br>ность после<br>экспонирования<br>в днях | Удельная радиоактив-<br>ность гиосциамина<br>в имп. (мин.) мг<br>$\bar{X} \pm \sigma$ по % | Удельная радиоактив-<br>ность скополамина<br>в имп. (мин.) мг<br>$\bar{X} \pm \sigma$ по % |
|--|--|--|
| 2  | $7 \pm 39\%$   | $7 \pm 88\%$   |
| 4  | $12 \pm 21\%$  | $11 \pm 55\%$  |
| 6  | $26 \pm 14\%$  | $20 \pm 31,5\%$  |
| 8  | $45 \pm 10\%$  | $22 \pm 28,6\%$  |
| 10   | $56 \pm 7,6\%$   | $32 \pm 19,5\%$  |
| 12   | $67 \pm 6,6\%$   | $45 \pm 13,6\%$  |
| 14   | $80 \pm 5,3\%$   | $54 \pm 12,5\%$  |
| 16   | $91 \pm 5\%$   | $76 \pm 9,5\%$   |
| 18   | $89 \pm 4,8\%$   | $72 \pm 11,2\%$  |
| 20   | $83 \pm 5\%$   | $55 \pm 13\%$  |
| 22   | $67 \pm 5,5\%$   | $51 \pm 13,5\%$  |
| 24   | $62 \pm 5,3\%$   | $50 \pm 13,2\%$  |
| 26   | $60 \pm 5,5\%$   | $47 \pm 13,5\%$  |
| 28   | $57 \pm 5,2\%$   | $42 \pm 14,6\%$  |
| 30   | $56 \pm 5,4\%$   | $38 \pm 16\%$  |

Удельная радиоактивность алкалоидов по вегетационным неделям в контрольных и в подопытных растениях (цветки удалены) уменьшилась с 6-й по 10-ую неделю, т.е. в начале цветения (см. табл. 2). В то же время количественное содержание алкалоидов возросло. По всей вероятности, тропановые алкалоиды в данном вегетационном периоде используются быстрее в процессе метаболизма растительного организма. В этом же периоде удельная радиоактивность алкалоидов контрольных и опытных растений сравнительно мало расходилась. Более низкая удельная радиоактивность скополамина по сравнению гиосциамином указывает на то, что скополамин образуется из гиосциамина, но не из радиоактивных аминокислот.

После 10-й вегетационной недели удельная радиоактивность алкалоидов в опытных растениях значительно меньше, чем в



Углублен (различительный) анализ и различия в  
составности от эволюционных процессов

| Продолжи-<br>тельность<br>протекания<br>и величина | Углублен (различительный) анализ |         |                 |         | Оценки различий                  |         |                 |         |
|--|----------------------------------|---------|-----------------|---------|----------------------------------|---------|-----------------|---------|
|  | Углублен (различительный) анализ |         | Оценки различий |         | Углублен (различительный) анализ |         | Оценки различий |         |
| в годах  | в годах                          | в годах | в годах         | в годах | в годах                          | в годах | в годах         | в годах |
|  | в годах                          | в годах | в годах         | в годах | в годах                          | в годах | в годах         | в годах |
| 6  | 171                              | 127     | 90              | 173     | 110                              | 110     | 110             | 110     |
| 7  | 142                              | 91      | 76              | 147     | 82                               | 82      | 82              | 82      |
| 8  | 109                              | 74      | 65              | 120     | 78                               | 78      | 78              | 78      |
| 9  | 76                               | 52      | 50              | 105     | 68                               | 68      | 68              | 68      |
| 10   | 49                               | 43      | 38              | 90      | 52                               | 52      | 52              | 52      |
| 11   | 86                               | 79      | 68              | 67      | 45                               | 45      | 45              | 45      |
| 12   | 117                              | 101     | 82              | 80      | 75                               | 75      | 75              | 75      |
| 13   | 119                              | 124     | 75              | 111     | 87                               | 87      | 87              | 87      |
| 14   | 112                              | 138     | 97              | 91      | 76                               | 76      | 76              | 76      |
| 15   | 124                              | 162     | 118             | 100     | 84                               | 84      | 84              | 84      |
| 16   | 109                              | 175     | 130             | 103     | 98                               | 98      | 98              | 98      |
| 17   | 100                              | 198     | 146             | 103     | 122                              | 122     | 122             | 122     |
| 18   | 90                               | 216     | 132             | 104     | 138                              | 138     | 138             | 138     |
| 19   | 75                               | 230     | 124             | 49      | 130                              | 130     | 130             | 130     |
| 20   | 64                               | 205     | 102             | 31      | 114                              | 114     | 114             | 114     |
| 21   | 52                               | 151     | 86              | 11      | 80                               | 80      | 80              | 80      |

контрольных растениях. Из этого можно заключить, что после удаления цветков метаболизм алкалоидов в растениях дурмана ускоряется.

В период образования плодов (после 13-14-й вегетационной недели), когда содержание тропановых алкалоидов в растениях возросло, удельная радиоактивность гиосциаминa постоянно уменьшалась, а удельная радиоактивность скополамина увеличилась. В этот период может возникнуть замедление метаболизма алкалоидов, вследствие чего произойдет накопление скополамина и увеличение удельной радиоактивности. В последнюю неделю вегетации удельная радиоактивность скополамина в контрольных и опытных растениях уменьшилась.

В течение вегетационного периода удельная радиоактивность гиосциаминa и скополамина в листьях дурмана в большинстве случаев выше, чем в корнях, что указывает на ускорение метаболизма алкалоидов в корнях. Начиная с 16-17-й вегетационной недели удельная радиоактивность гиосциаминa и скополамина в корнях подопытных растений выше, чем у контрольных растений. В этом периоде содержание гиосциаминa в корнях максимальное. Из этого можно сделать вывод, что при удалении цветков в конце вегетационного периода возрастает активность корневой системы при биосинтезе алкалоидов.

#### Литература

1. Коппель В. Об ассимиляции радиоактивного углерода в листьях дурмана при фотосинтезе. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып., 270, 1971, с. 53-62.
2. Коппель В., Эльмело И. Метод определения радиоактивности  $^{14}\text{C}$  на бумажных хроматограммах. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып., 270, 1971, с. 47-52.
3. Trabert, H. Eine neue Methode zur Bestimmung von Einzelalkaloiden in Alkaloidemischen. Naturwissenschaften, 1956, B. 43, Nr. 15, S. 351.
4. Trabert, H. Über einen empfindlichen Alkaloidnachweis in homöopathischen Präparaten. Pharmazeutische Zentrallhalle, 1954, B. 93, Nr. 7, S. 462.

ÜBER DIE BIOSYNTHESE VON ALKALOIDEN IN STECHÄPFELN  
BEI DER BLÜTENENTFERNUNG UND ASSIMILATION VON  
RADIOAKTIVEM KOHLENSTOFF

V. Koppel

Z u s a m m e n f a s s u n g

Die oberirdischen Teile des gemeinen Stechpfeils (*Datura stramonium* L. var. *stramonium* L.), von denen die Blüten kontinuierlich entfernt worden waren, wurden in der 14. Vegetationswoche im Medium von  $^{14}\text{CO}_2$  gehalten. Nachdem die Blätter im Laufe von 30 Tagen in verschiedenen Zeiträumen abgepflückt worden waren erreichten das Hyoscyamin und das Scopolamin in den Blättern am 16. Tag nach der Austeilung im  $^{14}\text{CO}_2$  die maximale spezifische Radioaktivität (SR). Die SR des Hyoscyamins war höher als die des Scopolamins, am 8. und 10. Tag sogar zweifach höher.

Bei der Austeilung normaler Pflanzen und Pflanzen ohne Blüten im  $^{14}\text{CO}_2$  in verschiedenen Vegetationswochen (VW) (die Blätter und Wurzeln wurden am 8. und 9. Tag nach der Austeilung im  $^{14}\text{CO}_2$  analysiert) sank die SR der Alkaloiden von der 6. bis 10. VW, wobei der Alkaloidgehalt sich erhöhte (schneller Abbau der Alkaloiden). Nach der 10. VW ist der SR der Alkaloiden in den Pflanzen ohne Blüten niedriger als die SR der Alkaloiden in den normalen Pflanzen. Nach 13. - 14. VW erhöht sich der Alkaloidgehalt, wobei die SR des Hyoscyamins sinkt und die SR des Scopolamins sich erhöht. Die SR der Alkaloiden in den Blättern ist höher als die SR in den Wurzeln. Ab 16. - 17. VW wird die Alkaloidbildung in den Wurzeln der Pflanzen ohne Blüten aktiviert (maximaler Gehalt des Hyoscyamins, eine hohe SR beider Alkaloiden).

# О ВЛИЯНИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА НАКОПЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ЛИСТЬЯХ ДУРМАНА ПРИ УДОБРЕНИИ ПОЧВЫ РАЗНЫМИ ДОЗАМИ АЗОТА

И. Таммару

Действие микроэлементов на дурман зависит от многих факторов, из которых большое значение имеют и микроэлементы в почве /1/. Учитывая отсутствие в литературе данных о влиянии микроэлементов на накопление алкалоидов в дурмане обыкновенном при удобрении почвы разными дозами микроэлементов, мы поставили задачу выяснить влияние разных доз азота на эффект, полученный от микроэлементов.

С этой целью в Тартуском государственном университете были проведены в 1973 году соответствующие вегетационные опыты с дурманом обыкновенным.

## Методика

Опыты были заложены на кислом среднеподзолистом суглинке, pH солевой вытяжки которого был 5,1. Повторность опытов 9-кратная, вегетационные сосудыместили 8,8 кг абсолютно сухой почвы. Фолами в опытах являлись РК, НРК и 3Н+РК. В качестве фосфорного удобрения вносили однозамещенный фосфат кальция в дозе 75 мг  $P_2O_5$  на 1 кг почвы, в качестве калийного удобрения использовали хлористый калий в дозе 75 мг  $K_2O$  на 1 кг почвы.

Азотное удобрение в виде нитрата аммония вносили в двух дозах 75 мг N (однократная доза) и 225 мг N (трехкратная доза). Микроэлементы бор, кобальт и марганец в дозе 1 мг элемента на 1 кг почвы вносили весной перед посевом семян. В качестве борного удобрения использовалась борная кислота, в качестве кобальтового удобрения - нитрат кобальта и в качестве марганцевого удобрения - сульфат марганца.

Остальные условия опытов аналогичны опыту 1972 года (см. статью автора "О влиянии больших доз кобальта на накопление алкалоидов в дурмане обыкновенном").

## Результаты опытов

В таблице I приведены данные о влиянии микроэлементов на урожай дурмана в зависимости от дозы азота. Как следует из

таблицы, на фоне без азота РК микроэлементы не влияют на урожай листьев. Только бор и марганец повышают урожай стеблей. Урожай корней понижается под влиянием исследуемых микроэлементов. Зато урожай плодов понижается только под влиянием кобальта. Остальные микроэлементы не влияют на урожай плодов.

На фоне однократной дозы азота (НРК) бор и кобальт повышают урожай листьев, марганец не дает эффекта. Урожай стеблей повышается только под влиянием кобальта, остальные микроэлементы заметного влияния не оказывают. Урожай корней не изменяется под влиянием бора и кобальта, но повышается под влиянием марганца. Урожай плодов заметно повышается под влиянием бора, действие остальных микроэлементов не достоверно.

На фоне трехкратной дозы азота (3N+РК) урожай листьев под влиянием исследуемых микроэлементов не изменяется. То же самое можно констатировать и относительно стеблей, в то время как урожай корней повышается под влиянием кобальта и марганца, урожай плодов повышается только под влиянием кобальта.

В таблице 2 приведены данные о влиянии микроэлементов на содержание алкалоидов в процентах в листьях дурмана в зависимости от дозы азота. По данным таблицы содержание гиосциаминна на фоне РК резко снижается. Снижение содержания алкалоидов наиболее заметно под влиянием бора, несколько меньше — под влиянием марганца и менее всего — под влиянием кобальта.

Содержание скополамина на фоне РК под влиянием микроэлементов (снижение находится в пределах неточности опытов) не изменяется. Сумма алкалоидов снижается на фоне РК аналогично гиосциамину.

На фоне НРК такие микроэлементы, как бор, кобальт и марганец повышают содержание гиосциаминна. Содержание скополамина на этом фоне не изменяется. Аналогично гиосциамину повышается и содержание суммы алкалоидов.

На фоне 3N+РК микроэлементы не изменяют содержание алкалоидов. Исключение представляет содержание скополамина, снижающееся под влиянием кобальта.

Данные о влиянии микроэлементов на содержание суммы алкалоидов в мг на одно растение в зависимости от дозы азота приведены в таблице 3. Из таблицы вытекает, что на фоне РК содержание алкалоидов снижается при всех исследуемых микро-

Т а б л и ц а    I  
Влияние микроэлементов на урожай дурмана  
в зависимости от дозы азота

| Фон   | Микро-эле-мент | Абсолютно сухой вес на одно растение<br>$\bar{x} \pm \xi_{\bar{x}} = 0,95$ |            |           |                    |
|-------|----------------|--|------------|-----------|--------------------|
|       |                | листья   | стебли     | корни     | плоды <sup>+</sup> |
| PK    | -              | 1,08±0,06  | 2,77±0,30  | 1,17±0,08 | 21,3±2,1           |
|       | B              | 1,09±0,07  | 3,14±0,41  | 1,00±0,11 | 19,9±1,1           |
|       | Co             | 1,15±0,11  | 2,91±0,40  | 0,75±0,13 | 16,1±1,1           |
|       | Mn             | 1,07±0,11  | 3,15±0,37  | 0,94±0,20 | 19,6±3,0           |
| NPK   | -              | 7,50±0,35  | 14,31±0,64 | 3,38±0,22 | 60,1±2,8           |
|       | B              | 8,53±0,28  | 13,63±0,44 | 3,22±0,16 | 71,0±3,8           |
|       | Co             | 8,92±0,43  | 16,84±0,83 | 3,80±0,22 | 59,5±3,9           |
|       | Mn             | 7,50±0,41  | 14,02±0,25 | 4,21±0,16 | 66,0±2,7           |
| 3N+PK | -              | 12,30±0,39   | 13,40±0,46 | 3,72±0,24 | 49,6±3,5           |
|       | B              | 12,01±0,31   | 12,43±0,18 | 4,10±0,16 | 53,3±2,4           |
|       | Co             | 12,04±0,31   | 13,50±0,52 | 4,41±0,25 | 63,4±2,2           |
|       | Mn             | 12,00±0,33   | 14,22±0,60 | 4,26±0,25 | 49,4±3,6           |

Повышение урожая в %

|       |    | листья | стебли | корни | плоды |
|-------|----|--------|--------|-------|-------|
| PK    | -  | 100,0  | 100,0  | 100,0 | 100,0 |
|       | B  | 100,9  | 113,3  | 85,5  | 93,4  |
|       | Co | 106,5  | 105,1  | 64,1  | 75,6  |
|       | Mn | 99,1   | 113,7  | 80,3  | 92,0  |
| NPK   | -  | 100,0  | 100,0  | 100,0 | 100,0 |
|       | B  | 113,3  | 95,1   | 84,2  | 118,1 |
|       | Co | 118,7  | 117,5  | 100,0 | 99,0  |
|       |    | 100,0  | 97,9   | 110,5 | 109,8 |
| 3N+PK | -  | 100,0  | 100,0  | 100,0 | 100,0 |
|       | B  | 97,6   | 92,5   | 110,8 | 107,5 |
|       | Co | 97,6   | 99,2   | 118,9 | 127,8 |
|       | Mn | 97,6   | 106,0  | 113,5 | 99,6  |

<sup>+</sup> сырой вес

Т а б л и ц а 2

Влияние микроэлементов на содержание алкалоидов  
в листьях дурмана в зависимости от дозы азота

| Фон                                 | Микро-эле-мент | Содержание алкалоидов на абсол. сухой вес<br>в % $\bar{x} \pm \bar{E}_{\bar{x}} = 0,95$ |              |                  |
|-------------------------------------|----------------|---|--------------|------------------|
|                                     |                | гиосциамин  | скополамин   | сумма алкалоидов |
| РК                                  | -              | 0,046±0,002   | 0,015±0,0008 | 0,061±0,002      |
|                                     | B              | 0,013±0,001   | 0,014±0,0008 | 0,027±0,001      |
|                                     | Co             | 0,031±0,002   | 0,015±0,0007 | 0,046±0,002      |
|                                     | Mn             | 0,022±0,001   | 0,014±0,0008 | 0,036±0,001      |
| NPK                                 | -              | 0,108±0,002   | 0,023±0,0008 | 0,132±0,002      |
|                                     | B              | 0,127±0,002   | 0,023±0,0008 | 0,150±0,002      |
|                                     | Co             | 0,125±0,002   | 0,023±0,0008 | 0,148±0,002      |
|                                     | Mn             | 0,119±0,002   | 0,022±0,0007 | 0,141±0,002      |
| 3N+PK                               | -              | 0,192±0,003   | 0,023±0,0008 | 0,215±0,003      |
|                                     | B              | 0,195±0,004   | 0,024±0,0008 | 0,219±0,004      |
|                                     | Co             | 0,176±0,003   | 0,018±0,0006 | 0,194±0,003      |
|                                     | Mn             | 0,195±0,004   | 0,023±0,0007 | 0,219±0,004      |
| Повышение содержания алкалоидов в % |                |   |              |                  |
|                                     |                | гиосциамин  | скополамин   | сумма алкалоидов |
| РК                                  | -              | 100,0   | 100,0        | 100,0            |
|                                     | B              | 28,3  | 93,3         | 44,4             |
|                                     | Co             | 67,4  | 100,0        | 75,4             |
|                                     | Mn             | 47,8  | 93,3         | 59,0             |
| NPK                                 | -              | 100,0   | 100,0        | 100,0            |
|                                     | B              | 116,5   | 100,0        | 113,6            |
|                                     | Co             | 114,7   | 100,0        | 112,1            |
|                                     | Mn             | 109,2   | 95,7         | 106,8            |
| 3N+PK                               | -              | 100,0   | 100,0        | 100,0            |
|                                     | B              | 101,6   | 104,3        | 101,9            |
|                                     | Co             | 91,7  | 78,3         | 90,2             |
|                                     | Mn             | 101,6   | 100,0        | 101,9            |

Т а б л и ц а 3

Влияние микроэлементов на содержание суммы алкалоидов  
в абсолютно сухих листьях дурмана в зависимости от  
дозы азота

| Фон   | Микро-<br>элемент | Содержание алкалоидов<br>в мг на одно растение<br>$\bar{x} \pm \epsilon_{\alpha} = 0,95$ | Повышение содержа-<br>ния алкалоидов в<br>% |
|-------|-------------------|--|---|
| I     | 2                 | 3  | 4   |
| РК    | —                 | 6,59±0,58  | 100,0                                       |
|       | В                 | 2,94±0,30  | 44,6  |
|       | Со                | 5,29±0,74  | 80,3  |
|       | Mn                | 3,85±0,50  | 58,4  |
| НРК   | —                 | 9,91±0,62  | 100,0                                       |
|       | В                 | 12,75±0,59   | 127,8                                       |
|       | Со                | 13,17±0,82   | 132,9                                       |
|       | Mn                | 10,58±0,73   | 106,8                                       |
| ЗН+РК | —                 | 26,45±1,21   | 100,0                                       |
|       | В                 | 24,12±1,12   | 91,2  |
|       | Со                | 23,28±0,96   | 88,0  |
|       | Mn                | 26,28±1,20   | 99,4  |

элементах. Особенно резко снижается содержание алкалоидов под влиянием бора и марганца.

На фоне НРК наблюдается повышение суммы алкалоидов под влиянием бора и кобальта. Повышение содержания алкалоидов под влиянием марганца находится в допустимых пределах проведения опытов.

На фоне ЗН+РК эффект от применения микроэлементов отсутствует.

#### Обсуждение результатов

Нашими опытами установлена зависимость действия микроэлементов бора, кобальта и марганца на дурман от дозы азота в почве. На фоне без добавления азота проявился некоторый токсический эффект микроэлементов, выразившийся в понижении накопления гиосциаминна в листьях дурмана. На содержание скополамина микроэлементы вредного влияния не оказывали.



Только на фоне однократной дозы азота появился стимулирующий эффект бора и кобальта. Влияние марганца статистически не доказано.

Трехкратная доза азота снижала до нуля действие микроэлементов. Только кобальт повышал урожай плодов на этом фоне, но снижалось накопление скополамина. На этом фоне азот сильно повышал урожай дурмана, а также накопление алкалоидов в листьях дурмана.

#### Выводы

1. На фоне без азота микроэлементы бор, кобальт и марганец действуют токсически, понижая накопление гиосциамина в листьях дурмана.

2. На фоне однократной дозы азота проявляется стимулирующий эффект микроэлементов бора и кобальта - повышается урожай листьев и накопление гиосциамина.

3. На фоне трехкратной дозы азота действие микроэлементов бора, кобальта и марганца не проявляется.

#### Л и т е р а т у р а

1. Tammaru, I. Mikroelementide mõjust ogaõunale. Eesti NSV Farmatseutide I. Kongressi Ettekannete Materjale 25.-26. okt. 1973.a., Tallinn, 1973, lk. 31.

#### THE INFLUENCE OF TRACE ELEMENTS ON THE ACCUMULATION OF ALKALOIDS IN THE LEAVES OF DATURA STRAMONIUM L. IN THE PRESENCE OF VARIOUS DOSES OF NITROGEN IN THE SOIL

I. Tammaru

#### S u m m a r y

The present paper describes the results of pot trials carried out to investigate the effect of B, Co and Mn on the accumulation of hyosciamine and hyoscyne in the leaves of stramony fertilized with various doses of nitrogen. The doses of trace elements were 1 mg element per 1 kg soil. The doses of nitrogen were 0, 75 and 225 mg N per 1 kg soil.

It was found that the yield of the leaves decreased on account of trace elements on a background without nitrogen (PK). The alkaloid content also decreased. On a background of NPK the yield and the alkaloid content of the leaves increased.

On a background of a threefold dose of nitrogen. (3N + PK) the trace elements were not effective.

## О ВЛИЯНИИ БОЛЬШИХ ДОЗ КОБАЛЬТА НА НАКОПЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ДУРМАНЕ ОБЫКНОВЕННОМ

И. Таммару

Влияние микроэлементов на лекарственные растения, в том числе и на дурман, изучено пока еще недостаточно. В Тартуском государственном университете в течение ряда лет (начиная с 1967 года) изучается влияние микроэлементов бора, кобальта и марганца на накопление алкалоидов в дурмане обыкновенном.

Наши опыты показали, что микроэлементы бор, кобальт и марганец в оптимальных условиях повышает урожай листьев и накопление алкалоидов в листьях дурмана. Оптимальной дозой бора, кобальта и марганца является, по нашим данным, 1 мг элемента на 1 кг почвы /1/.

Чтобы выяснить влияние больших доз кобальта на накопление алкалоидов в дурмане обыкновенном, в Тартуском государственном университете были проведены соответствующие вегетационные опыты.

### Методика

Опыты были заложены на кислом среднеподзолистом суглинке, pH солевой вытяжки 5,0, повторность 8-кратная. Вегетационные сосудыместили 8,5 кг абсолютно сухой почвы. Кобальт в дозах 3, 5 и 10 мг элемента на 1 кг почвы вносили весной перед посевом семян.

Фоном был NPK. В качестве азотного удобрения использовали нитрат аммония в дозе 75 мг N на 1 кг почвы, в качестве фосфорного удобрения — однозамещенный фосфат кальция в дозе 75 мг  $P_2O_5$  на 1 кг почвы и в качестве калийного удобрения — хлористый калий в дозе 75 мг  $K_2O$  на 1 кг почвы.

Поливку растений производили дождевой водой до 60% максимальной влагоемкости почвы. В каждый сосуд высевали по 55 семян дурмана обыкновенного. После окончательного пропеживания в каждом сосуде оставили по одному растению. Уборку урожая производили в конце вегетационного периода, притом собирали отдельно листья, стебли, корни и плоды, которые высушивали при комнатной температуре.

Количественное определение содержания алкалоидов производили методом электрофореза на бумаге. Электрофореграммы

проявлялись реактивом Драгендорфа в модификации Тжса и Рейтера /2/ и автора /4/. Для количественного определения алкалоидов в пятне использовался денситометр с двухцветным точечным сканирующим лучом /3/.

#### Результаты опытов

Влияние больших доз кобальта на урожай дурмана приведено в таблице I. Как видно из таблицы, урожай листьев дурмана понижается с повышением дозы кобальта.

Т а б л и ц а I

Влияние больших доз кобальта на урожай дурмана

| Доза<br>Co в<br>мг | Абсолютно сухой вес в г на одно растение<br>$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}} = 0,95$ |            |           |                    |
|--------------------|---|------------|-----------|--------------------|
|                    | листья  | стебли     | корни     | плоды <sup>+</sup> |
| -                  | 7,87±0,35   | 12,12±0,50 | 3,83±0,21 | 55,7±2,5           |
| 3                  | 7,38±0,25   | 12,59±0,43 | 4,42±0,31 | 50,0±2,8           |
| 5                  | 6,69±0,31   | 11,60±0,45 | 3,54±0,26 | 32,5±2,3           |
| 10                 | 4,05±0,37   | 5,90±0,35  | 1,62±0,17 | 18,1±1,8           |

| Повышение урожая в % |        |        |       |       |
|----------------------|--------|--------|-------|-------|
|                      | листья | стебли | корни | плоды |
| -                    | 100,0  | 100,0  | 100,0 | 100,0 |
| 3                    | 93,8   | 103,9  | 115,4 | 89,8  |
| 5                    | 85,0   | 95,7   | 92,4  | 58,3  |
| 10                   | 51,5   | 48,7   | 42,3  | 32,5  |

<sup>+</sup> сырой вес

Под влиянием больших доз кобальта понижается также урожай стеблей, корней и плодов. Наиболее отрицательно действует доза 10 мг кобальта на 1 кг почвы. Урожай всех органов дурмана понижается под влиянием этой дозы значительно - приблизительно два раза.

Влияние кобальта на процентное содержание алкалоидов в дурмане видно из таблицы 2. Как вытекает из таблицы, процентное содержание гиосциамина в листьях дурмана понижается с повышением дозы кобальта и тем сильнее, чем выше доза микроэлемента. Иначе действует кобальт на содержание гиосциамина в стеблях и корнях. В этих органах не наблюдается отрица-

Т а б л и ц а   2  
Влияние больших доз кобальта на содержание  
алкалоидов в дурмане

| Алкалоид              | Доза<br>Со в<br>мг | Содержание алкалоидов на абсол. сухой<br>вес в % $\bar{X} \pm \xi_{\text{ср}} = 0,95$ |               |              |
|-----------------------|--------------------|---|---------------|--------------|
|                       |                    | листья  | стебли        | корни        |
| Глюкоциа-<br>мин      | -                  | 0,233±0,004   | 0,039±0,001   | 0,111±0,004  |
|                       | 3                  | 0,144±0,001   | 0,034±0,008   | 0,163±0,002  |
|                       | 5                  | 0,117±0,001   | 0,050±0,003   | 0,151±0,003  |
|                       | 10                 | 0,067±0,003   | 0,037±0,001   | 0,147±0,005  |
| Скопола-<br>мин       | -                  | 0,030±0,001   | 0,0019±0,0001 | 0,0237±0,001 |
|                       | 3                  | 0,021±0,0008  | 0,0016±0,0001 | 0,0283±0,001 |
|                       | 5                  | 0,025±0,0007  | 0,0034±0,0002 | 0,0237±0,002 |
|                       | 10                 | 0,026±0,0006  | 0,0019±0,0001 | 0,0264±0,001 |
| Сумма ал-<br>калоидов | -                  | 0,263±0,004   | 0,041±0,002   | 0,135±0,001  |
|                       | 3                  | 0,165±0,002   | 0,035±0,008   | 0,192±0,004  |
|                       | 5                  | 0,142±0,002   | 0,053±0,003   | 0,174±0,005  |
|                       | 10                 | 0,093±0,003   | 0,039±0,001   | 0,173±0,007  |

| Повышение содержания алкалоидов в % |    |        |        |       |
|-------------------------------------|----|--------|--------|-------|
|                                     |    | листья | стебли | корни |
| Глюкоциамин                         | -  | 100,0  | 100,0  | 100,0 |
|                                     | 3  | 61,8   | 86,0   | 146,8 |
|                                     | 5  | 50,1   | 126,8  | 135,7 |
|                                     | 10 | 28,8   | 94,6   | 132,3 |
| Скополамин                          | -  | 100,0  | 100,0  | 100,0 |
|                                     | 3  | 70,0   | 84,4   | 119,5 |
|                                     | 5  | 83,3   | 179,2  | 100,0 |
|                                     | 10 | 86,7   | 99,0   | 111,0 |
| Сумма<br>алкалоидов                 | -  | 100,0  | 100,0  | 100,0 |
|                                     | 3  | 62,8   | 85,9   | 142,0 |
|                                     | 5  | 54,0   | 129,2  | 129,4 |
|                                     | 10 | 35,4   | 94,9   | 128,6 |

тельного влияния высоких доз кобальта. В стеблях доза 5 мг кобальта на 1 кг почвы даже повышает содержание тиосциами-на, остальные дозы достоверно не влияют на содержание тиосциами-на. В корнях содержание тиосциами-на повышается под влиянием кобальта при всех исследуемых дозах.

Содержание скополами-на в листьях дурмана также понижает-ся под влиянием высоких доз кобальта. Однако ясной зависимо-сти отрицательного влияния кобальта от дозы не наблюдается. В стеблях доза 5 мг кобальта повышает содержание скополами-на, остальные дозы не влияют на содержание скополами-на. В корнях содержание скополами-на наибольшее при дозе кобальта 3 мг. В остальных вариантах изменения в содержании скопола-мина находятся в допустимых пределах неточности опыта.

Содержание суммы алкалоидов в листьях дурмана понижается под влиянием высоких доз кобальта тем больше, чем выше доза микроэлемента. В стеблях содержание суммы алкалоидов наибо-лее высокое под влиянием дозы кобальта 5 мг, влияние осталь-ных доз не доказано. Содержание суммы алкалоидов в корнях повышается при всех исследуемых дозах. Наибольший эффект на-блюдается при дозе кобальта 3 мг

В таблице 3 приведены данные о влиянии кобальта на со-держание суммы алкалоидов в листьях дурмана в мг на одно растение. Как видно из таблицы, накопление алкалоидов пони-жается с повышением дозы кобальта тем больше, чем выше доза кобальта.

Т а б л и ц а 3  
Влияние кобальта на содержание суммы алкалоидов  
в абсолютно сухих листьях дурмана

| Доза<br>Со в<br>мг | Содержание алкалоидов в мг<br>на одно растение $\bar{x} \pm \epsilon_{\alpha} = 0,95$ | Повышение содержа-<br>ния алкалоидов в % |
|--------------------|---|--|
| -                  | 22,4  | 100,0                                    |
| 3                  | 13,1  | 58,5                                     |
| 5                  | 10,3  | 46,0                                     |
| 10                 | 4,1   | 18,3                                     |

## Обсуждение результатов

Из наших опытов следует, что кобальт оказывает значительное влияние на дурман. Ясно видно, что на урожай листьев, стеблей, корней и плодов вредно действуют дозы кобальта свыше 5 мг элемента на 1 кг почвы. Кобальт оказывает большое влияние и на накопление алкалоидов в дурмане. При этом влияние на разные органы различное.

В листьях наблюдается отрицательное влияние больших доз кобальта на гиосциамин. Накопление скополамина мало зависит от дозы кобальта. Все дозы начиная 3 мг Со влияют приблизительно одинаково.

Своеобразное влияние оказывает кобальт на накопление алкалоидов в стеблях и корнях. Доза 5 мг Со является, по-видимому, оптимальной по содержанию гиосциамин и скополамина в стеблях: наблюдается заметное повышение содержания алкалоидов. Остальные дозы достоверного влияния на содержание алкалоидов в стеблях не оказывают.

Наоборот, в корнях все исследуемые дозы кобальта значительно повышают процентное содержание алкалоидов. Некоторое преимущество имеет доза 3 мг Со: наблюдается максимальное повышение содержания гиосциамин и скополамина.

## Выводы

1. Высокие дозы кобальта снижают урожай всех органов дурмана.

2. Высокие дозы кобальта уменьшают процентное содержание алкалоидов в листьях дурмана. Процентное содержание гиосциамин тем меньше, чем выше доза кобальта. Содержание скополамина понижается под влиянием кобальта, но заметной зависимости от дозы кобальта не наблюдается.

3. Влияние кобальта на содержание алкалоидов в стеблях оптимальное при дозе кобальта 5 мг на 1 кг почвы: наблюдается повышение содержания гиосциамин и скополамина.

4. Процентное содержание алкалоидов в корнях дурмана повышается под влиянием высоких доз кобальта.

## Л и т е р а т у р а

1. Tammaru I. Mikroelementide mõjust ogaõunale. Eesti NSV Parmatseutide I Kongressi Ettekannete Materjale 25.-26. okt. 1973.a., Tallinn, 1973, lk. 31.
2. Thies H., Reuther F.W. Ein Reagens zum Nachweis von Alkaloiden auf Papierchromatogrammen. - "Naturwissenschaften", 1954, 41, 10, 230-231.
3. Кийс В.И., Резбен В. А., Ягосильд А.Д. Денситометр с двухцветным точечным сканирующим лучом. - "Биохимия", № 29, вып. 6., 1964, 1029-1034.
4. Таммару И. О влиянии микроэлементов на динамику роста, урожай и содержание алкалоидов в дурмане обыкновенном *Datura stramonium* L. в связи с известкованием кислой почвы. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 270, Труды по фармации XXVI, 1971, стр. 3.

### THE INFLUENCE OF LARGE DOSES OF COBALT ON THE ACCUMULATION OF ALKALOIDS IN DATURA STRAMONIUM L.

I. Tammaru

#### S u m m a r y

The present article gives a summary of pot trials carried out to investigate the effect of large amounts of cobalt on stramony. The doses of cobalt were 3, 5 and 10 mg Co per 1 kg soil.

It was found that the yield of all parts of stramony decreased on account of large doses of cobalt. The large doses of cobalt decreased the alkaloid content of the leaves. The larger the doses of cobalt, the less the hyosciamine content of the leaves. The hyoscyamine content of the leaves also decreased on account of large doses of cobalt, but there was no dependence upon the doses of trace elements.

The alkaloid content of the roots increased on account of large doses of cobalt.

## ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ЙОТАЛАМОВОЙ КИСЛОТЫ И ВАЗОГРАФИНА

М. Пааво, В. Луйк

В связи с постоянно повышающимися требованиями к качеству продукции лекарственных препаратов большое внимание уделяется вопросам, связанным с их стабильностью при хранении.

Изучение устойчивости и сроков годности лекарственных препаратов при использовании обычных методов исследования требует многих месяцев и даже лет, что представляет большое неудобство. В настоящее время в нашей стране и за рубежом разрабатываются ускоренные методы, основанные на изучении кинетики разложения лекарственных препаратов при достаточно высоких температурах, способствующих возрастанию скорости химических процессов в десятки и сотни раз /5, 6, 7/.

Таким образом, при повышенной температуре промежутки времени, в течение которого контролируемые показатели качества лекарственных средств сохраняются в допустимых пределах (экспериментальный срок годности), искусственно сокращаются по сравнению со сроком годности при средней температуре хранения.

В литературе нам не удалось найти данных о сроке годности рентгеноконтрастных веществ, содержащих йоталамовую кислоту.

Целью настоящего исследования явилось установление срока годности нового фармацевтического препарата — йоталамовой кислоты и ее раствора — вазографина в ампулах — методом "ускоренного старения".

### Экспериментальная часть

Нами были исследованы: порошок йоталамовой кислоты (5-ацетамидо-2, 4, 6-трийод - N - метилизоталамовая кислота) синтезированный в проблемной лаборатории сосудистой хирургии ТТУ, и вазографин для инъекций, представляющий собой 70%-ный водный раствор натриевой и N-метилглюкаминовой солей и йоталамовой кислоты, содержащий тетагин-кальция в качестве стабилизатора. Порошок йоталамовой кислоты расфасован в бан-



ки из оранжевого стекла. Вазографин хранится в стеклянных ампулах по 20 мл, упакованных в картонные коробки.

Препараты анализировали путем хранения их при повышенной температуре ( $50^{\circ}\text{C}$  и  $60^{\circ}\text{C}$ ) в течение 230 и 110 дней в отношении исходного препарата, хранившегося при  $20^{\circ}\text{C}$  в защищенном от света месте. Постоянство температуры в термостатах поддерживали в пределах  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Отклонений температуры больше  $1^{\circ}\text{C}$  в ходе хранения не отмечалось. Воздействие света на испытуемые образцы было исключено.

Для получения статистически достоверных результатов было поставлено три серии опытов при обеих температурах.

Показатели качества лекарственных средств в процессе "ускоренного старения" определяли через промежуток времени, эквивалентный шести месяцам хранения при обычных для данного лекарственного средства условиях -  $20^{\circ}\text{C}$ , то есть через каждые 11 дней при  $60^{\circ}\text{C}$  и 23 дня при  $50^{\circ}\text{C}$  /3/.

Наблюдение за качеством изучаемых образцов лекарственных средств проводили по показателям, предусмотренным предварительной нормативно-технической документацией. Периодической проверке не подлежали показатели, не изменяющиеся в процессе хранения.

Началом экспериментального хранения считали момент помещения лекарственного средства в термостатирующее устройство - а концом его - момент истечения экспериментального срока хранения, соответствующий 5-летнему сроку годности.

Результаты исследований представлены в таблице I.

Для количественного определения содержания в препаратах йоталамовой кислоты применяли стандартный метод восстановления йодорганических соединений цинковой пылью при нагревании в щелочной среде /2/. Образующийся при этом йодид реагировал с добавленным в избытке нитратом серебра. Количество непрореагировавшего нитрата серебра определяли путем титрования его роданидом аммония в присутствии индикатора железомононуклеиновых квасцов. На основании разницы количеств введенного в реакцию нитрата серебра и непрореагировавшего вычисляли количество йодидов и в соответствии с этим содержание йоталамовой кислоты.

Параллельно проводили определение содержания йоталамовой кислоты спектрофотометрическим методом при 241 нм ( $E_{1\%}^{1\text{см}}$  530 0,001% раствор в 95% этаноле) /4/.

Результаты, полученные этими двумя методами, были идентичны.

Как видно из таблицы I, содержание йоталамовой кислоты в ходе экспериментального хранения не изменялось. Возможное разложение соли йоталамовой кислоты при хранении вазографина проверяли на основе общепринятых методов /1/. При наличии свободного йода добавляемый раствор крахмала окрашивается в синий цвет, а при добавлении к водному раствору препарата хлороформа, хлороформный слой - в розовый цвет. Во всех случаях были получены отрицательные результаты.

Для установления соединений с открытой аминогруппой (5-амино-2, 4, 6 - триод - N - метилизоталамовая кислота), образующихся в результате возможного разложения соли йоталамовой кислоты, препараты вазографина обрабатывали в ледяной уксусной кислоте 0,1 мол раствором нитрита натрия. Через 5 минут окраску раствора сравнивали с эталонами окраски /1/. При длительном хранении (3,5 года) препаратов обнаруживали появление желтоватой или зеленоватой окраски от эталона № 5а, 5ж до № 4а, 4ж, т.е. протекание реакции восстановления. В некоторых случаях при длительном хранении наблюдали изменение окраски самого вазографина от бесцветной до розоватых оттенков (приблизительно эталон 5в, 5г).

Тем не менее из наших предварительных опытов на животных можно заключить, что препараты вазографина не обладают токсичностью при изменении окраски до степени 4а, 4ж.

Реакция растворов вазографина в ходе эксперимента снижалась от pH 7,20 до 6,50.

Понижение pH, а также легкое окрашивание препаратов вазографина при длительном их хранении могут быть обусловлены отщеплением ацильной группы йоталамовой кислоты с образованием уксусной кислоты и высвобождением аминогруппы в ее молекуле. В то же время при хранении порошка йоталамовой кислоты никаких изменений не обнаруживалось.

В дополнительном эксперименте нами было установлено, что качество препарата не изменяется и при хранении его в течение 10 лет.

Таким образом, можно утверждать, что растворы вазографина и йоталамовой кислоты устойчивы при 20°C в течение не менее 5 лет.

Т а б л и ц а I

Результаты исследований разогретых при различных температурах хранения

| I                | Срок хранения<br>при 20°C | Содержание<br>ноталеновой<br>кислоты (г/мл) | рН   | Цветность  | Содержание<br>свободного<br>иода | Содержание соеди-<br>нений с окис-<br>той винноградной | 7   |
|------------------|---------------------------|---|------|------------|----------------------------------|--|-----|
|                  | 2                         | 3   | 4    | 5          | 6                                | 1  |     |
| Температура 50°C | 0                         | 0,569                                       | 7,20 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 0,5 года                  | 0,569                                       | 7,10 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 1 год                     | 0,570                                       | 7,10 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 1,5 года                  | 0,571                                       | 7,02 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 2 года                    | 0,570                                       | 6,80 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 2,5 года                  | 0,570                                       | 6,77 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 3 года                    | 0,570                                       | 6,75 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 3,5 года                  | 0,570                                       | 6,73 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 4 года                    | 0,572                                       | 6,72 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  | 4,5 года                  | 0,573                                       | 6,65 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
| 5 лет            |                           | 0,574                                       | 6,60 | бесцветная | нет                              | нет  | нет |
|                  |                           |   |      | бесцветная | нет                              | нет  | нет |

Продолжение табл. I

| 1                | 2        | 3     | 4    | 5          | 6   | 7        |
|------------------|----------|-------|------|------------|-----|----------|
| Температура 60°С | 0        | 0,569 | 7,20 | бесцветная | нет | нет      |
|                  | 0,5 года | 0,569 | 7,08 | бесцветная | нет | нет      |
|                  | 1 год    | 0,569 | 6,88 | бесцветная | нет | нет      |
|                  | 1,5 года | 0,570 | 6,76 | бесцветная | нет | нет      |
|                  | 2 года   | 0,567 | 6,73 | бесцветная | нет | нет      |
|                  | 2,5 года | 0,568 | 6,70 | бесцветная | нет | нет      |
|                  | 3 года   | 0,571 | 6,67 | бесцветная | нет | нет      |
|                  | 3,5 года | 0,571 | 6,60 | бесцветная | нет | < 5а, 5ж |
|                  | 4 года   | 0,570 | 6,60 | < 5в, 5г   | нет | < 5а, 5ж |
|                  | 4,5 года | 0,572 | 6,58 | < 5в, 5г   | нет | < 4а, 4ж |
|                  | 5 лет    | 0,571 | 6,50 | ≤ 5в, 5г   | нет | ≤ 4а, 4ж |

## Литература

1. Государственная фармакопея СССР, издание X. М., 1968 г., с. 134-135, 138, 758.
2. Международная фармакопея, ВОЗ, Женева, 1969 г., с. 3-4.
3. Временная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода "ускоренного старения" при повышенной температуре. М., 1974, с. 1-10.
4. Пааво М.Х. Спектрофотометрическое определение йоталамовой кислоты и вазографина. В печати.
5. Трофимова Л.И., Мишин В.П. Ускоренные неизотермические методы определения сроков годности лекарственных средств. - "Фармация", 1976, № 3, с. 77-81.
6. Яскина Д.З., Мишин В.П., Гриценко С.В. Об устойчивости и сроках годности химико-фармацевтических препаратов и готовых лекарственных форм. - "Фармация", 1968, № 1, с. 81-86.
7. Sprung M. Untersuchung über die Stabilität einer Modelllösung von Ergotamintartarat. Pharmazie, 1961, № 10, S. 515.

## DIE UNTERSUCHUNGEN DER ERHALTUNGSFÄHIGKEIT DER IOTHALAMSÄURE UND DES VASOGRAFINS

M. Paavo, B. Luik

### Z u s a m m e n f a s s u n g

Die Untersuchungen der Erhaltungsfähigkeit der Iothalamsäure und des Vasografin wurden mit beschleunigten Methoden bei erhöhten Temperaturen (50 °C und 60 °C) durchgeführt. Alle 23 (50 °C) und alle 11 (60 °C) Tage wurden die chemische und die physikalisch-chemische Analyse der Präparate durchgeführt. Aus den Untersuchungsergebnissen ging hervor, daß die Iothalamsäure und das Vasografin bei 20 °C mindestens 5 Jahre lagerbeständig sind.

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЙОТАЛАМОВОЙ КИСЛОТЫ И ВАЗОГРАФИНА

М. Пааво

В 1975 году в проблемной лаборатории сердечно-сосудистой хирургии ТТУ впервые в СССР было синтезировано новое рентгеноконтрастное средство - йоталамовая кислота. Каждый новый фармацевтический препарат требует всестороннего изучения и разработки методов как качественного, так и количественного анализа. Все чаще наряду с химическими методами находят применение физические и физико-химические методы анализа.

Одним из наиболее распространенных методов в контроле лекарственных средств является спектрофотометрия в ультрафиолетовой области спектра. Этот метод применяют для количественного анализа, идентификации и определения чистоты в комбинированных лекарственных формах /1, 4/.

Йоталамовая кислота (5-ацетамидо-2,4,6-трийод-*N*-метил-зофталамовая кислота) относится к йодорганическим соединениям и в количественном анализе обычно определяют содержание органически связанного йода. Для этого используют различные окислительные и восстановительные /2, 3/ методы разложения вещества с последующим определением ионов йодида или йодата известными объемными (или фотоколориметрическими) методами. Такие методы достаточно точны и воспроизводимы (ошибка объемных определений составляет  $\pm 0,2 - 0,5\%$ , а при фотоколориметрическом  $\pm 0,9 - 3,0\%$ ). При наличии в исследуемом соединении примесей неорганического йода методами элементарного анализа определяют суммарный йод.

В настоящей работе исследовали возможность прямого спектрофотометрического определения йоталамовой кислоты и 70%-ного раствора - вазографина без предварительной деструкции органической части молекулы.

### Экспериментальная часть

#### а) Аппаратура и материалы

Исследование проводили на спектрофотометрах CF-4A и Spectord UV Vis в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм в области длины волны от 220 до 330 нм.

В качестве объектов исследования служили: йоталямовая кислота в порошке и вазографин - 70%-ный раствор для инъекций. Йоталямовую кислоту высушивали при температуре 100-105°C до постоянного веса. При определении температуры плавления йоталямовой кислоты установили, что она начинает разлагаться при температуре 270°C (начинают выделяться пары йода).

Инъекционный раствор вазографина содержит, кроме основного вещества йоталямовой кислоты, тетрацин-кальций (0,01%), М - метилглюкамин (12%) и натра едкого (1,24%).

Так как йоталямовая кислота в воде мало растворяется, мы исследовали растворимость ее в разных растворителях и нашли, что йоталямовая кислота растворяется в 95%-ном этиловом спирте, диметилсульфоксиде, диметилформамиде и в щелочной среде начиная с pH 6.

Для спектрофотометрических определений йоталямовую кислоту растворяли в этиловом спирте или в щелочной среде, так как кривые поглощения диметилсульфоксида и диметилформамида частично совпадают с кривой светопоглощения йоталямовой кислоты. Растворы исследуемых веществ приготавливали путем растворения навесок (с точностью до 0,1 мг) в соответствующих растворителях.

Контрольные реакции на присутствие йода и йодидов были отрицательны.

#### б) УФ - спектры поглощения йоталямовой кислоты

Для построения кривых поглощения измеряли оптические плотности растворов в области длин волн от 220 до 330 нм с интервалом 5 нм, а вблизи максимума поглощения - 1 нм. Выявлен один максимум при 241-242 нм. Эта величина хорошо согласуется с опубликованным Stark R.R. /5/ максимумом поглощения раствора йоталямовой кислоты в спирте при 242 нм. Форма и максимум кривой поглощения не зависят от растворителя.

Важным условием, необходимым для применения спектрофотометрического метода для количественного анализа, является подчинение светопоглощения растворов исследуемых веществ закону Бугера-Ламберта-Бера. Для установления пределов концентраций растворов веществ, при которых растворы подчиняются этому закону, мы приготавили серию стандартных растворов с известной концентрацией исследуемого вещества и определяли их оптическую плотность при длине волны 241 нм. На основе полученных данных (не менее 6 для одной концентрации) был вы-

числен удельный показатель поглощения  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ , 241 нм по следующей формуле:

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D}{c \cdot b} \quad (I)$$

$E_{1\text{ см}}^{1\%}$  — удельный показатель поглощения,  
 $D$  — оптическая плотность в максимуме поглощения,  
 $c$  — концентрация вещества (в %),  
 $b$  — толщина поглощенного слоя (в данном случае 1 см).

Удельным показателем поглощения  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$  данного вещества является поглощение 1%-ного его раствора при длине оптического пути 1 см при данной длине волны. Согласно закону Бугера-Ламберта-Бера, удельный показатель поглощения при избранной длине волны для данного вещества является величиной постоянной и не зависит от его концентрации и толщины слоя раствора. Эта величина может служить критерием чистоты препарата и использоваться для расчетов концентраций веществ в анализируемых пробах.

В таблицах 1 и 2 приведены значения удельных показателей поглощения йоталамовой кислоты в растворах едкого натра (рН 7-8) и 95%-ного этилового спирта при 241 нм. Как видно, удельный показатель поглощения при 241 нм в интервале выбранных концентраций растворов остается постоянным.

Аналогично определяли  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$  и при остальных длинах волн. Кривые зависимости  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$  от длины волны представлены на рис. 1.

Подчинение растворов йоталамовой кислоты закону Бугера-Ламберта-Бера мы наблюдали в интервале концентрации от 2,0 до 30 мкг/мл, что соответствует интервалу оптической плотности примерно от 0,1 до 1,6 при 241 нм. Вне этих пределов точность измерений на спектрофотометре СФ-4А является неудовлетворительной.

Найденное нами числовое значение (530) удельного показателя поглощения при 241 нм мы брали за основу в дальнейших расчетах количественного содержания йоталамовой кислоты по формуле (2). Для упрощения определения содержания йоталамовой кислоты в препарате на рис. 2 изображена зависимость между концентрацией раствора йоталамовой кислоты и оптической плотностью раствора.

Точность спектрофотометрического определения йоталамовой кислоты оценивали следующим образом.



Т а б л и ц а    I

Определение  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ , 241 нм йоталамовой кислоты  
в растворе 95%-ного этилового спирта

| Концент-<br>рация<br>С мкг/мл | Оптиче-<br>ская<br>плотность<br>D | Удельный пока-<br>затель погло-<br>щения<br>$E_{1\text{ см}}^{1\%}$ , 241 нм | Статистический<br>показатель |
|-------------------------------|-----------------------------------|--|------------------------------|
| 1                             | 2                                 | 3  | 4                            |
| 2                             | 0,106                             | 530  |                              |
| 4                             | 0,213                             | 532  |                              |
| 6                             | 0,318                             | 530  | n = 12                       |
| 8                             | 0,423                             | 529  | $\bar{x} = 530$              |
| 10                            | 0,530                             | 530  |                              |
| 12                            | 0,636                             | 530  |                              |
| 14                            | 0,743                             | 531  | $\epsilon_{0,95} = 0,661$    |
| 16                            | 0,848                             | 530  | $\Delta = 530 \pm 0,7$       |
| 18                            | 0,952                             | 528  | относит. ошибка<br>0,1%      |
| 20                            | 1,060                             | 530  |                              |
| 25                            | 1,327                             | 531  |                              |
| 30                            | 1,587                             | 529  |                              |

Около 0,01 г (точная навеска) йоталамовой кислоты раство-  
ряли в 95%-ном этиловом спирте в мерной колбе емкостью 100  
мл и доводили до метки 95%-ным этанолом (раствор А); 10 мл  
раствора А переносили в мерную колбу емкостью 100 мл и дово-  
дили до метки 95% этанолом.

Измеряли оптическую плотность раствора при 241 нм отно-  
сительно 95% этилового спирта (нулевой раствор). Содержание  
вещества в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot b}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot a} \quad (2)$$

где    a - навеска вещества (в г)

      b - разведение

Примеры определения точности спектрофотометрического ме-  
тода приведены в таблице 3.

Т а б л и ц а    2

Определение  $E_{I\text{ см}}^{I\%}$ , 24I нм для йоталамовой  
кислоты в растворе едкого натра (рН 7-8)

| Концент-<br>рация<br>С мкг/мл | Оптическая<br>плотность<br>D | Удельный показа-<br>тель поглощения<br>$E_{I\text{ см}}^{I\%}$ , 24I нм | Статистический<br>показатель |
|-------------------------------|------------------------------|---|------------------------------|
| 2                             | 0,106                        | 530   |                              |
| 4                             | 0,212                        | 530   |                              |
| 6                             | 0,319                        | 532   | n = 12                       |
| 8                             | 0,423                        | 529   | $\bar{x} = 530$              |
| 10                            | 0,530                        | 530   |                              |
| 12                            | 0,635                        | 529   | $\xi_{0,95} = 0,616$         |
| 14                            | 0,741                        | 529   | $\Delta = 530 \pm 0,6$       |
| 16                            | 0,850                        | 531   | отн. ошиб. $\pm 0,1\%$       |
| 18                            | 0,954                        | 530   |                              |
| 20                            | 1,060                        | 530   |                              |
| 25                            | 1,327                        | 531   |                              |
| 30                            | 1,587                        | 529   |                              |

Таблица 3

Точность определения спектрофотометрическим методом  
йоталамовой кислоты в растворе 95%-ного этилового спирта

| Навеска<br>в г | Концентра-<br>ция С<br>(мкг/мл) | Оптиче-<br>ская<br>плотность<br>D | Найдено |        | Статистиче-<br>ский показа-<br>тель |
|----------------|---------------------------------|-----------------------------------|---------|--------|-------------------------------------|
|                |                                 |                                   | г       | %      |                                     |
| 0,0986         | 9,86                            | 0,523                             | 0,0987  | 100,08 |                                     |
| 0,1000         | 10,00                           | 0,530                             | 0,1000  | 100,00 | $\bar{x} = 99,84$                   |
| 0,1012         | 10,12                           | 0,536                             | 0,1011  | 99,90  |                                     |
| 0,1031         | 10,31                           | 0,546                             | 0,1030  | 99,92  | $\xi_{0,95} =$<br>$= 0,2389$        |
| 0,1023         | 10,23                           | 0,541                             | 0,1020  | 99,78  |                                     |
| 0,0998         | 9,98                            | 0,529                             | 0,0998  | 100,00 | $\Delta = 99,84$<br>$\pm 0,24$      |
| 0,1008         | 10,12                           | 0,530                             | 0,1000  | 99,21  | отн. ошибка<br>$\pm 0,24\%$         |
| 0,1032         | 10,32                           | 0,546                             | 0,1030  | 99,81  |                                     |

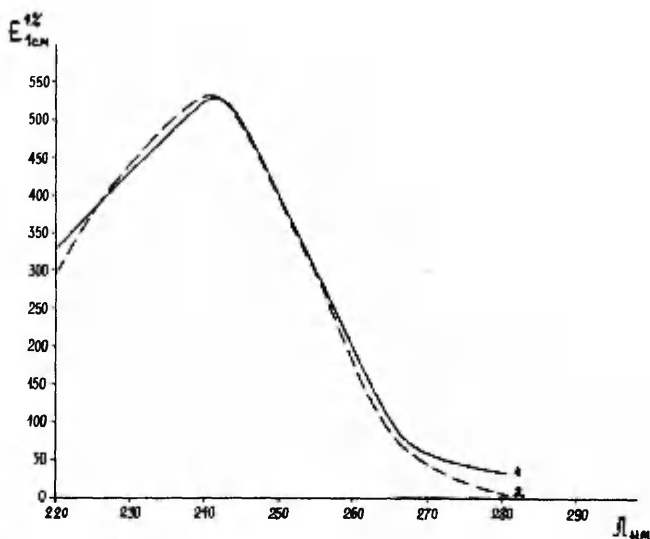


Рис. I. Спектры поглощения раствора йоталамовой кислоты в 95%-ном этиловом спирте (1) и едкого натра (рН 7-8) (2).

Для объективной оценки результатов наших исследований мы проводили их статистическую обработку. Результаты проведенных спектрофотометрических определений характеризуются высокой точностью. Относительная ошибка определений не превышает  $\pm 0,24\%$ .

в) Методика определения йоталамовой кислоты в ампулах 70%-ного раствора вазографина для инъекций

Предварительно нами было показано, что содержащиеся в растворе для инъекций тетацин-кальция, N-метилглюкамин и едкий натр не мешают спектрофотометрическому определению йоталамовой кислоты. Для этого снимали кривые поглощения отдельных компонентов раствора в разведениях, соответствующих их концентрациям в разведениях вазографина (рис. 3). Оказалось, что эти компоненты раствора не поглощают свет при 241 нм.

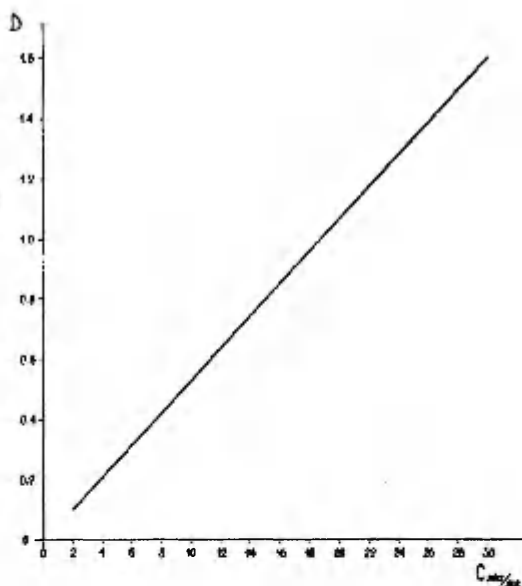


Рис. 2. Зависимость оптической плотности  $D$  от концентрации йталамовой кислоты (в  $\text{мкг/л}$  мл).

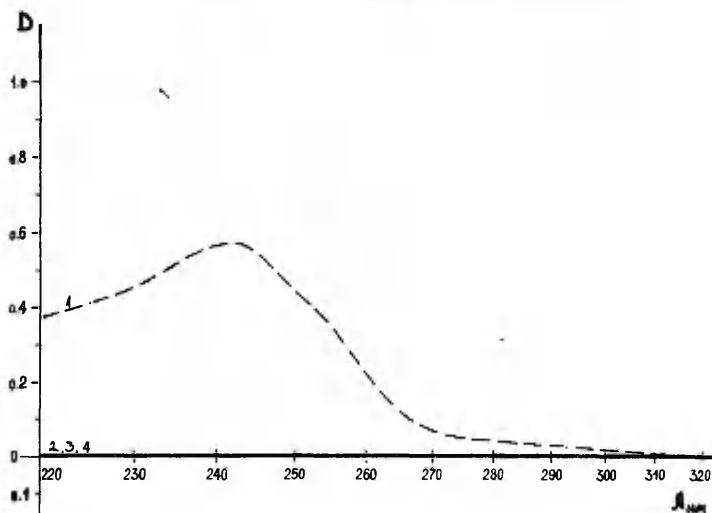


Рис. 3. Зависимость оптической плотности ( $D$ ) всех компонентов инъекционного раствора вазографина (при разведении в 50 тысяч раз) от длины волны 1 - йталамовая кислота, 2 -  $N$ -метилглюкамин, 3 - натр едкий, 4 - тетацин-кальция.

Для определения йоталамовой кислоты в мерную колбу емкостью 500 мл вносили 0,1 г (точная навеска) 70%-ного раствора вазографина из ампул и доводили водой до метки (раствор А). 10 мл раствора А переносили в мерную колбу емкостью 100 мл и доводили до метки водой. Измеряли оптическую плотность полученного раствора при 241 нм относительно дистиллированной воды. Содержание вещества в граммах в одной ампуле вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot b \cdot v}{E_{1\text{ см}, 241\text{ нм}}^{1\%}} \cdot a \quad (3)$$

где  $v$  — объем раствора в одной ампуле (в мл), в данном случае 20 мл.

Метод позволяет определить содержание йоталамовой кислоты в инъекционном растворе без предварительного разделения других компонентов раствора.

#### Выводы

1. Исследованы УФ-спектры поглощения йоталамовой кислоты и инъекционного 70%-ного раствора-вазографина.

2. Определен удельный показатель поглощения и концентраций, в пределах которых растворы препаратов подчиняются основному закону светопоглощения.

3. Разработаны и предложены методики спектрофотометрического количественного определения йоталамовой кислоты в чистом виде и в лекарственной форме — 70%-ном растворе вазографина.

#### Литература

1. Государственная фармакопея СССР, издание X, М., 1968, с. 134-135, 138, 779-781.
2. Савельева Г.И., Кудимов Г.И. Новый метод определения органически связанного йода в фармацевтических препаратах, **Медицинская промышленность СССР**, 1960, №7, с. 36-39.
3. Супрун П.П. Быстрые и точные методы количественного определения билитраста. — Аптечное дело, 1962, № 3, с. 34-37.

4. Křačmar, J., Křačmarova, J. Ultrafialova spektrofotometrie v kontrole léčiv II. Československa farmacie, 1966, 15, No 2, c. 68.
5. Stark, R.R. Qualitative and Quantitative Tests for Iothalamic Acid. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1963, 52, No 12, 1180-1182.

# DIE SPEKTROPHOTOMETRISCHE UNTERSUCHUNG DER IOTHALAMSÄURE UND DES VASOGRAFINS

M. Paavo

## Z u s a m m e n f a s s u n g

Die spektrophotometrische Untersuchung des neuen Röntgenkontrastmittels, der Iothalamsäure und ihrer Injektionslösung, des Vasografins zeigte, daß das Absorptionsmaximum der Iothalamsäure im ultravioleten Bereich, auf der Wellenlänge von 241 nm liegt. Der Spezialkoeffizient der Absorption  $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  ist gleich 530 in den 0,001 % alkoholischen und alkalischen Lösungen. Diese Methode ermöglicht die Präparate qualitativ zu bewerten. Zugleich bildet er die Grundlage für die quantitative Bestimmung sowohl der Iothalamsäure als auch der 70% Injektionslösung (des Vasografins).

## АРОМАТОПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИКОТИНАМИДА В МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ВИТАМИННЫХ ПРЕПАРАТАХ

И. Крузе

Никотинамид часто применяется в качестве одного из компонентов в поливитаминных препаратах /1, 2, 3/.

Известно, что четко выраженные полярнографические волны никотинамида диффузионного характера получаются при полярнографировании на щелочных фонах. В интервале pH от 8,95 до 11,8 образуется волна, с независимой от величины pH высотой /4/. Ввиду того, что при величинах  $\text{pH} \leq 10$  волна никотинамида частично покрывается волнами тиамин, пиридоксин и никотиновой кислоты /5/, то в качестве фона рекомендуют 0,1 н. раствора едкого натра или едкого кали /5, 6, 7, 8/. Но можно ли раствор с подобным высоким pH непосредственно использовать при многокомпонентных витаминных смесях, учитывая лабильность нескольких компонентов в сильнощелочной среде? Например, в сильнощелочной среде рибофлавин дает две новые волны с потенциалами полувольт - 1,65 в и - 1,81 в /9/. При анализе препарата "Panvitan Powder" отмечалось, что только от одних сопровождающих веществ образуется небольшая волна в диапазоне восстановления никотинамида, за счет которого следует корректировать высоту волны /5/. Для этого при полярнографическом определении необходимо брать тот же поливитаминный препарат без никотинамида. Но это возможно при проведении анализа в лаборатории завода, производящего данный поливитаминный препарат, и едва ли в других контрольно-аналитических лабораториях страны.

Целью настоящей работы было хроматополярнографическое исследование никотинамида и разработка надежной методики его определения в сложных лекарственных формах.

### Экспериментальная часть

Для определения использовали полярограф ЛР 55А (ЧССР), снабженный специальной приставкой для самопишущего электронного потенциометра «КВТ-1 ЕН (ГДР), и полярограф ЛР 70 (ЧССР). Ячейка была аналогична конструкции, рекомендуемой в работе /10/. В качестве ртутного капельного электрода использовали

электрод:  $m = 3,37$  мг/сек.,  $t = 1,00$  сек.,  $K_0 = 2,248$  мг<sup>2/3</sup>. сек.<sup>-1/2</sup>. Температуру  $25 \pm 0,1^\circ$  поддерживали ультратермостатом У - 10 (ГДР). Для хроматографического разделения использовали колонку с сильноосновным сорбентом Amberlite IRA 410 (в ОН - форме, высотой 20 см, внутренним диаметром 1,5 см).

В качестве стандартного препарата использовали 99,8%-ный никотинамид с температурой плавления  $129,8^\circ$ , химические реактивы марки "ч.д.а", витаминные препараты медицинские.

Полярографическое поведение никотинамида изучалось на разных фонах в широком диапазоне pH. Выяснилось, что на фонах 0,1 н. раствора хлорида калия, фосфатного и фосфатно-цитратного буферных растворов pH 5,0 - 8,2, аммиачного буфера pH 8,6 - 8,7 нельзя четко различить волны пиридоксина, никотиновой кислоты и никотинамида. На фонах 0,01 н. - 0,2 н. растворов едкого натра мы получили четко выраженную волну с одинаковой высотой независимо от концентрации едкого натра. Это позволяет хроматополярографически определить никотинамид на основании калибровочной кривой; при хроматографировании растворов многокомпонентных витаминных препаратов, освободившиеся от сильноосновного сорбента различные количества ОН - ионов не влияют на высоту полярографической волны никотинамида на фоне 0,05 н. раствора едкого натра. На этом фоне волна никотинамида образуется с  $E_{1/2} = -1,76$  в. Величина предельного тока деполяризатора линейно зависит от концентрации его в растворе в интервале  $10^{-3}$  -  $10^{-5}$  М. Величина температурного коэффициента равна 1,8%. Высота волны линейно зависит от корня квадратного высоты ртутного столба, что характерно для диффузионных токов.

Наши опыты подтвердили возникновение положительной систематической ошибки при непосредственном полярографическом определении никотинамида в многокомпонентных препаратах. Кроме того, в некоторых случаях были получены нечеткие волны никотинамида.

Поэтому мы исследовали возможность полярографического определения, отделив никотинамид от других веществ. Подходящим оказалось хроматографическое разделение на сильноосновном сорбенте Amberlite IRA 410. В колонку анионита вводили поодиночке приведенные в таблице I витамины в количествах, указанных в таблице, после их растворения в 20 мл дистиллированной воды (для полного растворения рутина, фолиевой и



Т а б л и ц а    I  
Хроматографирование витаминов на анионите  
Amberlite IRA 410

| №<br>п/п | Витамин                  | Внесено в<br>колонку мг | Результат |
|----------|--------------------------|-------------------------|-----------|
| 1 :      | 2                        | 3                       | 4         |
| 1.       | Тиамин бромид            | 25                      | +         |
| 2.       | Кокарбоксилаза           | 25                      | +         |
| 3.       | Рибофлавин               | 4                       | +         |
| 4.       | Флавин мононуклеотид     | 10                      | +         |
| 5.       | Кальция пантотенат       | 20                      | +         |
| 6.       | Кислота никотиновая      | 50                      | +         |
| 7.       | Пиридоксин гидрохлорид   | 10                      | +         |
| 8.       | Пиридоксаль гидрохлорид  | 10                      | +         |
| 9.       | Цианокобаламин           | 0,2                     | 0         |
| 10.      | Кислота оротовая         | 2                       | ?         |
| 11.      | Кальция пангамат         | 50                      | +         |
| 12.      | Кислота фолиевая         | 10                      | +         |
| 13.      | Кислота аскорбиновая     | 100                     | +         |
| 14.      | Биотин                   | 2                       | ?         |
| 15.      | Кислота п-аминобензойная | 10                      | +         |
| 16.      | Викасол                  | 45                      | -         |
| 17.      | Кислота липоевая         | 10                      | +         |
| 18.      | Рутин                    | 10                      | +         |
| 19.      | Никотинамид              | 3-50                    | 0         |
| 20.      | Холинхлорид              | 10                      | 0         |

липоевой кислот добавили немного 0,1 н. раствора едкого натра). Скорость вытекания 25 капель (около 1,25 мл) в минуту. Колонку промывали дистиллированной водой до количества элюата 120 мл. Для контроля кроме того собрали еще два раза по 100 мл элюата. В элюатах доказали наличие или отсутствие витамина при помощи специфических реакций. Знак "+" в таблице означает, что вещество адсорбируется на ионите количественно и с водой не элюируется, знак "-" означает, что витамин (викасол) частично адсорбируется на ионите (сульфит ионы) и частично элюируется с водой (2-метил-1,4-нафтохинон), знак "0" означает, что вещество не адсорбируется на ионите, а элюируется с водой. При биотине и оротовой кислоте не уда-

лось получить точного ответа, учитывая низкую чувствительность специфической реакции, в таблице обозначено под знаком "?. Хроматографированием высвобождается большинство витаминов. Вещества, использованные для окрашивания драже, также задерживаются на анионите. Вместе с никотинамидом элюируются лишь цианокобаламин, холин и 2-метил-1,4-нафтохинон. Ретинол, токоферол и кальциферол, как нерастворяющиеся в воде, выделяются фильтрованием еще до хроматографирования. Все элюаты были подвергнуты полярографированию (для этого к 10 мл элюата добавили 0,5 мл 1 н. раствора едкого натра) в интервале напряжения от -1,6 в до -2,0 в. Ни в одном элюате, кроме первого элюата никотинамида, волны не заметили.

С целью контроля полноты элюирования никотинамида с водой, в колонку ионита вводили разные количества никотинамида и после сбора 120 мл элюата полярографировали на фоне 0,05 н. раствора едкого натра. Как следует из результатов, приведенных в таблице 2, в данных условиях никотинамид элюируется количественно. Разница между внесенным и элюированным количеством составляет от -0,15 до +0,38%.

Методика количественного определения. Реактивы: 1. 1н. раствор едкого натра  
2. Стандартный 0,08%-ный раствор никотинамида.

Построение калибровочного графика. 0,08 г (точная навеска) стандартного образца никотинамида растворяют в воде, в мерной колбе емкостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. 10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу емкостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. 1 мл полученного раствора содержит 0,08 мг никотинамида. Отбирают 1, 2, 3, 4 и 5 мл в колбы емкостью 15-20 мл. Добавляют в каждую колбу 0,5 мл 1 н. раствора едкого натра и доводят объем раствора водой до 10 мл. Полученные растворы поочередно помещают в ячейку полярографа и снимают полярограмму, как указано ниже.

Из тщательно растертой пробы испытуемого образца берут навеску и растворяют в мерной колбе емкостью 100 мл при взбалтывании в течение 5 минут в воде, чтобы в полученном растворе содержалось 3,0-6,0 мг никотинамида в 20 мл. Объем раствора доводят водой до метки. Раствор фильтруют через небольшой фильтр, первую часть фильтрата отбрасывают. 20 мл фильтрата вводят в колонку анионита Amberlite IRA 410. Ско-

Amberlite IRA 410

| Кл.<br>с/п | Внесено на-<br>котанамиша<br>в колонку<br>мг | Получено никотинамиша в аналите<br>мг               | Данные статистической обработки   |
|------------|--|---|---|
| I :        | 2 :  | 3 :   | 4 : 5 : 6 : 7 : 8 : 9   |
|            |  | мг  | $\bar{x}$ s $s_{\bar{x}}$ $\xi_{0,95}$ $\xi_{отн}, \%$  |
| I          | 5,0  | 3,03<br>2,98<br>2,96<br>3,02<br>$\bar{x} = 2,998$   | 101,0<br>99,33<br>98,66<br>100,66<br>$\bar{x} = 99,913$<br>2,998 0,03305 0,01653 0,05258 I,75 |
| 2          | 5,0  | 5,15<br>5,032<br>4,91<br>4,983<br>$\bar{x} = 5,019$ | 103,0<br>100,64<br>98,20<br>99,66<br>$\bar{x} = 100,38$<br>5,019 0,1008 0,0504 0,1604 3,20    |
| 3          | 10,0   | 10,17<br>9,93<br>9,89<br>9,95<br>$\bar{x} = 9,985$  | 101,70<br>99,30<br>98,90<br>99,50<br>$\bar{x} = 99,85$<br>9,985 0,1258 0,0629 0,2001 2,00     |

1859 1860 1861 1862 1863 1864 1865 1866 1867 1868 1869 1870 1871 1872 1873 1874 1875 1876 1877 1878 1879 1880 1881 1882 1883 1884 1885 1886 1887 1888 1889 1890 1891 1892 1893 1894 1895 1896 1897 1898 1899 1900 1901 1902 1903 1904 1905 1906 1907 1908 1909 1910 1911 1912 1913 1914 1915 1916 1917 1918 1919 1920 1921 1922 1923 1924 1925 1926 1927 1928 1929 1930 1931 1932 1933 1934 1935 1936 1937 1938 1939 1940 1941 1942 1943 1944 1945 1946 1947 1948 1949 1950 1951 1952 1953 1954 1955 1956 1957 1958 1959 1960 1961 1962 1963 1964 1965 1966 1967 1968 1969 1970 1971 1972 1973 1974 1975 1976 1977 1978 1979 1980 1981 1982 1983 1984 1985 1986 1987 1988 1989 1990 1991 1992 1993 1994 1995 1996 1997 1998 1999 2000 2001 2002 2003 2004 2005 2006 2007 2008 2009 2010 2011 2012 2013 2014 2015 2016 2017 2018 2019 2020 2021 2022 2023 2024 2025 2026 2027 2028 2029 2030 2031 2032 2033 2034 2035 2036 2037 2038 2039 2040 2041 2042 2043 2044 2045 2046 2047 2048 2049 2050 2051 2052 2053 2054 2055 2056 2057 2058 2059 2060 2061 2062 2063 2064 2065 2066 2067 2068 2069 2070 2071 2072 2073 2074 2075 2076 2077 2078 2079 2080 2081 2082 2083 2084 2085 2086 2087 2088 2089 2090 2091 2092 2093 2094 2095 2096 2097 2098 2099 2100 2101 2102 2103 2104 2105 2106 2107 2108 2109 2110 2111 2112 2113 2114 2115 2116 2117 2118 2119 2120 2121 2122 2123 2124 2125 2126 2127 2128 2129 2130 2131 2132 2133 2134 2135 2136 2137 2138 2139 2140 2141 2142 2143 2144 2145 2146 2147 2148 2149 2150 2151 2152 2153 2154 2155 2156 2157 2158 2159 2160 2161 2162 2163 2164 2165 2166 2167 2168 2169 2170 2171 2172 2173 2174 2175 2176 2177 2178 2179 2180 2181 2182 2183 2184 2185 2186 2187 2188 2189 2190 2191 2192 2193 2194 2195 2196 2197 2198 2199 2200 2201 2202 2203 2204 2205 2206 2207 2208 2209 2210 2211 2212 2213 2214 2215 2216 2217 2218 2219 2220 2221 2222 2223 2224 2225 2226 2227 2228 2229 2230 2231 2232 2233 2234 2235 2236 2237 2238 2239 2240 2241 2242 2243 2244 2245 2246 2247 2248 2249 2250 2251 2252 2253 2254 2255 2256 2257 2258 2259 2260 2261 2262 2263 2264 2265 2266 2267 2268 2269 2270 2271 2272 2273 2274 2275 2276 2277 2278 2279 2280 2281 2282 2283 2284 2285 2286 2287 2288 2289 2290 2291 2292 2293 2294 2295 2296 2297 2298 2299 2300 2301 2302 2303 2304 2305 2306 2307 2308 2309 2310 2311 2312 2313 2314 2315 2316 2317 2318 2319 2320 2321 2322 2323 2324 2325 2326 2327 2328 2329 2330 2331 2332 2333 2334 2335 2336 2337 2338 2339 2340 2341 2342 2343 2344 2345 2346 2347 2348 2349 2350 2351 2352 2353 2354 2355 2356 2357 2358 2359 2360 2361 2362 2363 2364 2365 2366 2367 2368 2369 2370 2371 2372 2373 2374 2375 2376 2377 2378 2379 2380 2381 2382 2383 2384 2385 2386 2387 2388 2389 2390 2391 2392 2393 2394 2395 2396 2397 2398 2399 2400 2401 2402 2403 2404 2405 2406 2407 2408 2409 2410 2411 2412 2413 2414 2415 2416 2417 2418 2419 2420 2421 2422 2423 2424 2425 2426 2427 2428 2429 2430 2431 2432 2433 2434 2435 2436 2437 2438 2439 2440 2441 2442 2443 2444 2445 2446 2447 2448 2449 2450 2451 2452 2453 2454 2455 2456 2457 2458 2459 2460 2461 2462 2463 2464 2465 2466 2467 2468 2469 2470 2471 2472 2473 2474 2475 2476 2477 2478 2479 2480 2481 2482 2483 2484 2485 2486 2487 2488 2489 2490 2491 2492 2493 2494 2495 2496 2497 2498 2499 2500 2501 2502 2503 2504 2505 2506 2507 2508 2509 2510 2511 2512 2513 2514 2515 2516 2517 2518 2519 2520 2521 2522 2523 2524 2525 2526 2527 2528 2529 2530 2531 2532 2533 2534 2535 2536 2537 2538 2539 2540 2541 2542 2543 2544 2545 2546 2547 2548 2549 2550 2551 2552 2553 2554 2555 2556 2557 2558 2559 2560 2561 2562 2563 2564 2565 2566 2567 2568 2569 2570 2571 2572 2573 2574 2575 2576 2577 2578 2579 2580 2581 2582 2583 2584 2585 2586 2587 2588 2589 2590 2591 2592 2593 2594 2595 2596 2597 2598 2599 2600 2601 2602 2603 2604 2605 2606 2607 2608 2609 2610 2611 2612 2613 2614 2615 2616 2617 2618 2619 2620 2621 2622 2623 2624 2625 2626 2627 2628 2629 2630 2631 2632 2633 2634 2635 2636 2637 2638 2639 2640 2641 2642 2643 2644 2645 2646 2647 2648 2649 2650 2651 2652 2653 2654 2655 2656 2657 2658 2659 2660 2661 2662 2663 2664 2665 2666 2667 2668 2669 2670 2671 2672 2673 2674 2675 2676 2677

[illegible]

рость вытекания 25 капель в минуту. Колонку промывают водой до количества элюата  $\sim 120$  мл. Добавляют 10 мл 1 н. раствора едкого натра и доводят объем раствора водой до метки в мерной колбе емкостью 200 мл.

10 мл полученного раствора помещают в ячейку полярографа, пропускают ток азота в течение пяти минут и снимают полярограмму в интервале потенциалов от  $-1,6$  в до  $-2,0$  в.

Содержание никотинамида вычисляют по формуле:

$$x = \frac{c \cdot d \cdot 50}{a},$$

где  $x$  - содержание никотинамида в 1 драже, таблетке, порошке (в мг)

$c$  - количество никотинамида, найденное по калибровочному графику (в мг)

$d$  - средний вес 1 драже, таблетки, порошка (в г)

$a$  - навеска (в г)

Результаты количественного определения никотинамида в многокомпонентных витаминных препаратах приведены в таблице 3. Как следует из таблицы 3, относительная ошибка предложенного метода составляет  $\pm 1\%$  до  $\pm 3,5\%$ . Разработанная методика является специфической для никотинамида. Продолжительность анализа 2 часа.

#### Литература

1. Волкинд И.В., Гуревич И.Я., Урюпов О.Ю. Рецептурный справочник для врачей и фармацевтов. Л., 1976.
2. Compendium of Pharmaceuticals and Specialties. Toronto, 1976.
3. Kruse A., Kruse I. Nõukogude Eesti Tervishoid, 20 ( 4 ), 325, 1977.
4. Knobloch E. Physikalisch-chemische Vitaminbestimmungsmethoden. Berlin, 1963.
5. Asahi Y. J. Vitaminol., 4 ( 1 ), 118, 1958.
6. Pleticha R. Pharmazie, 13 ( 10 ), 622, 1958.
7. Девятнин В.А., Кузнецова Л.А. Мед. пром. СССР, 18(3), 58, 1964.
8. Государственная Фармакопея СССР, X изд. М., 1968.

9. Бѣзина М., Zuman P. Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy. New York, 1958.
10. Майрановский С.Г., Титов Ф.С. Журнал аналитической химии, 15 (1), 121, 1960.

CHROMATO-POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF NICOTINAMIDE  
IN MULTICOMPONENT PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

1. Kruse

S u m m a r y

A chromato-polarographic method has been elaborated for the determination of nicotinamide in multicomponent vitamin preparations. The method is based on the measurement of a reduction wave in 0.05 M sodium hydroxide after chromatographic separation of nicotinamide on the column with Amberlite IRA 410. Nicotinamide gave a well-defined wave at the d.m.e. The half-wave potential was  $-1.76$  V vs. SCE. The method gives an accuracy of  $\pm 3,5$  % for nicotinamide. The time consumed by the chromato-polarographic procedure does not exceed two hours.

## ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ И ЛИПАМИДА

И. Крузе

Липовая или тиоктовая кислота (1,2-дитиолан-3-валериановая кислота) и ее амид (липамид или тиоктамид) часто применяется как *per se*, так и в качестве одного из компонентов в поливитаминных препаратах /1, 2, 3, 4/.

Известно, что S-S связи в циклических полисульфидных препаратах восстанавливаются на ртутном капельном электроде /5, 6, 7/.

Целью настоящей работы было поляррографическое исследование поведения липовой кислоты и ее амида на ртутном капельном электроде.

### Экспериментальная часть

Для определений использовали поляррограф Polarecord E 261 R, приспособление для переменноточковой поляррографии AC-Modulator E 393 (Metrohm AG, Herisau, Швейцария) и инфракрасный спектрофотометр Unicam SP 1000 (Pye Unicam Ltd., Англия). В качестве ртутного капельного электрода использовали электрод с принудительным отрывом капель ( $m = 3,35$  мг/сек.,  $t = 0,25$  сек.,  $K_c = 1,78$  мг<sup>2/3</sup> . сек.<sup>-1/2</sup>). Все поляррографические определения проводились в термостатированных растворах с постоянной температурой  $+25 \pm 0,1^\circ$ .

В качестве стандартных препаратов использовали DL-липовую кислоту фирмы Sigma (США) и амид липовой кислоты фирмы Orion (Финляндия). Качественный анализ стандартных препаратов проводили при помощи ИК-спектрофотометрии. Спектры сняты в области  $3800$  см<sup>-1</sup>– $500$  см<sup>-1</sup> в таблетках с бромидом калия. Калия бромид для спектроскопии, остальные реактивы марки *pro analysi*. Витаминные препараты финского и японского производства.

Поляррографическое поведение липовой кислоты и липамида изучалось на разных фонах в широком диапазоне pH. Компонентами буферных растворов были уксусная, борная и фосфорная кислоты, едкий натр, калия фосфат однозамещенный, натрия фосфат двузамещенный, аммиак, аммония хлорид. Выяснилось, что

липовая кислота дает четкие, отлично выраженные полярнографические волны диффузионного характера. Потенциал полуволны  $-0,63$  в при pH 7,0 (по отношению к нас. к.з.),  $-\Delta E_{1/2}/\Delta pH = 60$  мв и 30 мв при pH I - 9 и  $> 9$  соответственно. Пики, полученные при переменноточковой полярграфии, выражены четко. Величины  $E_p = E_{I/2} - 40$  мв. Минимально определяемая концентрация деполаризатора  $10^{-6}$  М. Электрохимическая реакция на катоде протекает, вероятно, с образованием дигидролиповой кислоты:

Полярнографические волны липамида также очень четко выражены. Потенциал полуволны  $E_{1/2}$  липамида  $-0,69$  в при  $pH$  7,0 (по отношению к нас. к.э.),  $-\Delta E_{1/2}/\Delta pH = 170$  мв, 70 мв и 30 мв при  $pH < 4$ ,  $4 - 9,7$  и  $> 9,7$  соответственно. Температурный коэффициент 1,65%. Величины четко выраженных переменноточковых полярнографических пиков  $E_p = E_{1/2} - 15$  мв. Полярнография при постоянном токе в интервале  $10^{-3} - 10^{-5}$  М показала прямолинейную зависимость высоты волны от концентрации деполаризатора. Высота волны практически не зависит от состава буфера, концентрации и  $pH$  фона. Полярнографические пики, полученные при переменном токе, сильно зависят от названных факторов, так как сопротивление ячейки имеет первостепенное значение для высоты пика.

$$X = \frac{C_{CT}}{\frac{h}{h_X} \cdot \frac{v_X + v_{CT}}{v_{CT}} - \frac{v_X}{v_{CT}}} \cdot \frac{d \cdot v}{a}$$



Т а б л и ц а I

Количественное определение липамидов в поливитаминных  
препаратах (n = 5)

| Название и состав препарата<br>мг                                    |         |                                   |     | Найдено<br>липамидов<br>мг | Метрологические<br>данные     |
|--|---------|-----------------------------------|-----|----------------------------|-------------------------------|
| Tiorin capsul. (Orion Oy, Финляндия)                                 |         |                                   |     |                            |                               |
| Липамид  | 5       | Кислота аскорбиновая              | 10  | 5,14                       | $\bar{x} = 5,14$              |
| Тиамин мононитрат  | 5       | Никотинамид                       | 15  | 5,21                       | $S_{\bar{x}} = 0,0251$        |
| Рибофлавин   | 2       | Кислота оротовая                  | 30  | 5,08                       | $\varepsilon_{0,95} = 0,0645$ |
| Кальция пантотенат   | 10      | Инозит                            | 5   | 5,09                       | $\varepsilon_{отн} = 1,26\%$  |
| Пиридоксина гидрохлорид  | 1       | Кислота дегидрохлоревая           | 5   | 5,18                       |                               |
| Цианкобаламин  | 0,001   |                                   |     |                            |                               |
| Beostan tabul. (Lääke Oy, Финляндия)                                 |         |                                   |     |                            |                               |
| Липамид  | 5       | Пиридоксина гидрохлорид           | 10  | 5,09                       | $\bar{x} = 5,05$              |
| Тиамин мононитрат  | 15      | Никотинамид                       | 20  | 5,17                       | $S_{\bar{x}} = 0,0452$        |
| Флавиномононуклеотид   | 15      | Кислота оротовая                  | 30  | 4,91                       | $\varepsilon_{0,95} = 0,116$  |
| Кальция пантотенат   | 25      | Натрия фосфат одно-<br>замещенный | 150 | 4,99                       | $\varepsilon_{отн} = 2,30\%$  |
| Tioctan Tablet Strong (Fujisawa Pharma-<br>ceutical Co.Ltd., Япония) |         |                                   |     |                            |                               |
| Состав такой же, как у Tiorin capsul.                                |         |                                   |     | 5,21                       | $\bar{x} = 5,13$              |
|  |         |                                   |     | 5,06                       | $S_{\bar{x}} = 0,0342$        |
|  |         |                                   |     | 5,15                       | $\varepsilon_{0,95} = 0,0879$ |
|  |         |                                   |     | 5,19                       | $\varepsilon_{отн} = 1,71\%$  |
|  |         |                                   |     | 5,04                       |                               |
| Kirivit tabul. (Medica, Финляндия)                                   |         |                                   |     |                            |                               |
| Липамид  | 5       | Токоферола ацетат                 | 15  |                            |                               |
| Ретинола ацетат  | 1000 МЕ | Менадион                          | 0,2 | 4,92                       | $\bar{x} = 4,978$             |
| Тиамин хлорид  | 10      | Рутин                             | 10  | 4,86                       | $S_{\bar{x}} = 0,0423$        |
| Рибофлавин   | 7,5     | Никотинамид                       | 50  | 5,12                       | $\varepsilon_{0,95} = 0,109$  |
| Кальция пантотенат   | 10      | Кислота оротовая                  | 20  | 5,01                       | $\varepsilon_{отн} = 2,18\%$  |
| Пиридоксина гидрохлорид  | 5       | Инозит                            | 10  | 4,98                       |                               |
| Кислота аскорбиновая   | 75      | Холина гидротартрат               | 20  |                            |                               |
|  |         | Кислота дегидрохлоревая           | 5   |                            |                               |

где  $x$  - содержание липамида в I драже, таблетке или порошке (в мг);

$c_{ст}$  - концентрация стандартного раствора (в мг/мл);

$h_x$  - высота волны испытуемого раствора (в мм);

$h$  - высота волны испытуемого + стандартного раствора (в мм);

$v$  - объем, до которого доведена навеска (в мл);

$v_x$  - объем введенного в ячейку испытуемого раствора (в мл);

$v_{ст}$  - объем введенного в ячейку стандартного раствора (в мл);

$d$  - средний вес I драже, таблетки, порошка (в г);

$a$  - навеска (в г).

Разработанную нами методику /7/ применяли для количественного определения липамида в витаминных препаратах сложного состава. Результаты количественного определения липамида в поливитаминных препаратах приведены в таблице I. Относительная ошибка полярографического метода не превышает +2,3%. Сопутствующие вещества (витамины А, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, В<sub>15</sub>, В<sub>с</sub>, С, D, Е, Н, К, Р, РР, инозит, холин, кислота дегидрохоловая и др.) определению не мешают. Продолжительность анализа 45 минут.

#### Литература

1. Compendium of Pharmaceuticals and Specialties. Toronto, 1976.
2. Lievonon M. Pharmaca Fennica 1975. Rauma, 1974.
3. Martindale. The Extra Pharmacopoeia 26th. London, 1973.
4. Kruse A., Kruse I. Nõukogude Eesti Tervishoid, 20, 325, 1977.
5. Asahi Y., Terada K., Ishio M. Review of Polarography, 14, 382, 1967.
6. Senda M., Shibabe S., Okada E. Review of Polarography, 14, 393, 1967.
7. Крузе И.Э. Уч. зап. Тартуского гос. ун-та. Труды по химии, вып. 488 1980, с. 43.

## POLAROGRAPHIC BEHAVIOUR OF LIPOIC ACID AND LIPAMIDE

I. Kruse

### S u m m a r y

Lipoic acid gave a well-defined two-electron wave at the dropping mercury electrode. The limiting current was diffusion-controlled. The half-wave potential was dependent upon pH of the solution  $E_{1/2} = -0.63$  V vs. SCE at pH 7.0;  $-\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 60$  mV and 30 mV in pH 1 - 9 and higher than 9, respectively. The summit potential of the alternating current wave  $E_p = E_{1/2} - 40$  mV. The half-wave potential of lipamide  $E_{1/2} = -0.69$  V vs. SCE at pH 7.0;  $-\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 170$  mV, 70 mV and 30 mV in pH < 4, 4 - 9.7 and higher than 9.7, respectively. The summit potential of the a.c. wave  $E_p = E_{1/2} - 15$  mV.

A polarographic method has been elaborated for the determination of lipamide in multicomponent vitamin preparations. The method gives an accuracy of  $\pm 2.3\%$  for lipamide. The time consumed by the polarographic procedure does not exceed 45 minutes.

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОКСИДИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИФТАЗИНА

К. Аннук, Б. Луйк

Трифтазин, химическое название которого 2-трифлуорметил-10-(3-метилпиперазинил-4)-пропил-фенотиазин гидрохлорид, является официальным препаратом. Но в литературе о нем мало данных. Достаточно много, как выясняется из обзора литературы, информации о других фенотиазиновых дериватах. Под влиянием окисляющих веществ фенотиазиновые дериваты сравнительно лабильны. Продукты окисления часто имеют красный цвет. Окисление происходит по принципу автооксидации и этот процесс катализируют особенно тяжелые металлы и высокая концентрация ионов водорода. В организме начинается разложение дериватов оксидацией у атома серы в цикле с образованием соответствующих сульфоксидов.

В данной работе мы стремились сравнить химические свойства трифтазина со свойствами других фенотиазиновых дериватов (главным образом с аминазином) и применить их для количественного определения чистого трифтазина - порошка, а также в таблетках и в драже.

В последние годы появилось много трудов об аналитических исследованиях фенотиазиновых дериватов, среди которых (H.Moll, H.Bauer) /3/, Венгерская 6 фармакопея /II/ и целый ряд других источников описывают много красящих реакций на дипразин, аминазин, мепазин и другие фенотиазиновые дериваты с окислителями. Эти красящие реакции применялись как для качественного, так и для количественного определения фенотиазиновых дериватов. Следуя литературным данным, из методов окисления мы пробовали применять бром-, йодо- и цериметрии /12/, об использовании перманганометрии не удалось найти данных. Для изолирования отдельных фенотиазиновых дериватов Y.Wagner рекомендует подходящие хроматографические методы /10/.

Разработан волнометрический метод для определения метеразина, тиоридазина, диэтазина и др. при помощи титрования раствором сульфата церия /1/. При титровании в кислой среде цвет раствора изменяется, становится интенсивнее до максимума и затем немного обесвечивается. Этот момент хорошо фиксируется. Точность определения при количестве вещества 0,02-0,2 г не превышает 1%.

Из осаждения — титрования применялся метод непрямого комплексонометрического определения аминазина, дипразина и динезина /2/. Фенотиазиновая основа всасывается с трийодидом кадмия в присутствии йодистого калия. Превышающее количество трийодистого кадмия титруют комплексонометрическим методом при помощи индикатора ксиленолоранжа.

Н.Вауер и Н.Молл для количественного определения аминазина применяли всасывание с рейнекатом аммония /3/. Осадок изолируют и растворяют в ацетоне и пропускают через ватитные колонки. Высвобожденная родановая кислота определяется алкалометрически.

Исследована реакция с вольфрамовой кислотой шести фенотиазиновых дериватов для весоаналитического и спектрофотометрического определения /4/. Оптимальная среда для количественного всасывания 0,5 Н НСl раствор, а для пиперидиновых дериватов 0,1 Н НСl. Соответствующее соотношение у промазина и пиперидина 1:3, а у дериватов пиперидина 2:3. Колебания при весоаналитическом определении -1,8 ... +1,7%, а при спектрофотометрическом методе -0,7 ... +0,18%.

Польский автор М.Тарасевич /5/ выработал колориметрический метод для спектрофотометрического определения аминазина, левомепромазина и прометазина с феррироданидовым комплексом, используя сольвент хлороформ, ацетон. Методика простая и быстрая. Noerdin исследовал эту реакцию с метиленовым синим, цинк- и роданидкомплексом /6/.

Советские ученые С. Плигин и И. Сисова для определения динезина применяли фототурбидиметрический метод /7/. По их данным ранее применяемый метод имеет ряд недостатков. Они рекомендуют метод Voks-Welles'a, который базируется на всасывании динезина с таллиум /III/ ацидокомплексом. Образуется бесцветное, труднорастворимое вещество, имеющее высокую степень дисперсности. Положительная сторона метода заключается в том, что его можно применять и для количественного определения динезина в драже.

Международная фармакопея /13/ дает правило периметрического метода для количественного определения аминазина (*Chlorpromazini hydrochloridum*) в чистом виде и в виде таблеток. Препарат растворяют в воде, окисляют серной кислотой и титруют 0,1 Н раствором сульфата церия до исчезания красного цвета, образующегося во время титрования.

ГФ X СССР в статье "Triptazinum" дает правило для ко-

личественного определения субстрата: титрование в безводной уксусной кислоте с 0,1 N раствором хлорной кислоты ( $\text{HClO}_4$ ).

К сожалению, не дано правил для определения драже и таблеток.

По нашим данным, невозможно прямо определить трифтазин в таблетках и в драже хлорной кислотой.

Учитывая литературные данные, в данной работе мы обратили внимание на титрометрический метод окислительного количественного определения трифтазина.

### Экспериментальная часть

В качестве сравнительного объекта применяли трифтазин, полученный от Московского хим.-фарм. завода имени 8 марта. Количество препарата определили по ГФ X СССР /14/. Посторонних веществ не нашли. Кислотность водяного раствора и потеря веса при нагревании не превышали допустимые нормы. Количественное содержание определили тоже по правилам фармакопеи и полученные данные анализировали математическо-статическим методом и нашли, что применяемый сравниваемый трифтазин был 99,39%-ный. Колебания отдельных определений были от - 0,07% до +0,10%. Ошибка опыта была 0,03%. Титрование в безводной среде, к сожалению, невозможно применять для количественного определения трифтазина в таблетках и в драже. Результаты оказываются неточными, колеблющимися. Для упрощения анализа таблеток и драже исследовали несколько оксидиметрических методов.

Международная фармакопея дает правило для цериметрического определения субстрата и таблеток аминазина, которые титруют в среде, разбавленной серной кислотой 0,1 N раствором церий сульфатом, до исчезновения красного цвета, образующегося во время титрования. Брали на исследование ту же методику и применяли непосредственно для количественного определения трифтазина и его лекарственных форм. Для этого растворили примерно 0,01 г (точная навеска) препарата в 20 мл воды, окисляли 10 мл разбавленной серной кислотой и титровали 0,1 N раствором церия сульфата до исчезновения красного цвета, который образовался в ходе титрования. Выяснилось, что трифтазин ведёт себя в данной реакции аналогично аминазину. При определении трифтазина получены достаточно удовлетворительные результаты титрования.

По средним эквивалентам анализов, проведенных с чистым субстратом, нашли, что 0,02046 г трифтазина соответствует 1 мл 0,1 Н раствора перия сульфата. Максимальные колебания определения равнялись +0,00009 и -0,00008 при относительной ошибке 0,18%.

Наши данные соответствуют данным, приведенным в кандидатской диссертации Г.А. Карнишаускайте /12/, что периметрический метод, базгрюющийся на окислении ядра фенотиазина, имеет высокую точность. К сожалению, не всегда можно достать и, следовательно, применять соли перия - драгоценного лантаноида. Поэтому подробно исследовалось применение перманганометрического метода. Многочисленными предварительными опытами выяснили среду и условия реакции. Так как в драже и в таблетках максимальное содержание действующего вещества 10 мг, то для анализа взяли приблизительные этому количества вещества 8-20 мг.

Это количество трифтазина растворили в 5 мл воды, затем окисляли в 15 мл разбавленной серной кислоты. Полученный раствор трифтазина титровали 0,1 Н раствором перманганата калия из полумикробюретки, точность которой 0,01 мл. В сильно-кислой среде трифтазин легко окисляется под влиянием калия перманганата. Бесцветный раствор изменяется при добавлении реактива и становится все время краснее, даже переходя буро-красный при больших количествах препарата (50 мг). Но тогда интенсивность раствора понемногу ослабляется, в эквивалентной точке моментально обесцвечивается и становится розовым от минимального излишнего количества раствора перманганата калия. Титровали до слабого розового цвета, который держался 30 сек. Титровать надо медленно - в начале бегущими каплями, а в конце - одиночными каплями. Содержание колбы необходимо постоянно взбалтывать. При быстром титровании получались неудовлетворительные результаты, так как перед эквивалентной точкой раствор приобретает тревожный зеленый тон.

При больших количествах вещества до 0,1 г опять были получены неудовлетворительные результаты. Вероятно, условия реакции не подходящие при таких количествах вещества.

Вышеуказанное состояние наблюдалось и тогда, когда титрование проводили в более разбавленной сернокислотной среде. Максимальный красный цвет, который достигается в ходе титрования, в этом случае относительно слабый. Ослабление интенсивности и, наконец, исчезновение цвета в эквивалентной точке очень трудно фиксировать.

В подходящих условиях с оптимальным количеством трифтазина провели 24 перманганометрических определения. Подсчитав количество трифтазина, взятого для анализа, и количество 0,1 N раствора  $KMnO_4$ , взятого на титрование, вычисляли, какое количество трифтазина соответствует 1 мл 0,1 N раствора  $KMnO_4$ . Из полученных данных нашли арифметическое среднее 0,014429. Максимальные колебания +0,00014 и -0,00005. Относительная ошибка определения 0,75%. Полученное арифметическое среднее 0,014429 очень близко числу 0,014412, которое умноженное на  $10^5$  теоретически равняется 1/3 молекулярного веса трифтазина - 480,4. Выяснилось, что для окисления одной грамм-молекулы трифтазина идет три грамм-молекулы калия перманганата.

Перманганометрический аналитический метод применялся также для определения действующего вещества в таблетках. Таблетку взбалтывали в 5 мл воды. После ее разложения раствор и осадок имели желтый цвет. Прибавили 15 мл разведенной серной кислоты и титровали 0,1 N раствором калия перманганата. При определении таблеток переход красной окраски сравнительно лучше фиксировать, потому что раствор имеет желтый цвет от оболочек таблеток. При повторных определениях нашли, что на одну таблетку идет 0,75-0,76 мл 0,1 N раствора калия перманганата. Титровали от одной и до 4 таблеток вместе. По вычисленному нами эквиваленту, нашли, что в таблетке содержится действующего вещества 10.80-10.95 мг.

Можно предположить, что трифтазин легче реагирует с окислителем и при наступлении избыточности последнего, т.е. исчезновении красного цвета, **остаётся желтый цвет, который постепенно слабеет и, наконец, обесцвечивается.**

Применяли и такую модификацию, где 10 таблеток растворяли в воде в 100 мл мерной колбе и полученный раствор фильтровали. Первые порции фильтрата (10 мл фильтрата) для анализа не применялись. Титровали 0,1 N раствором калия перманганата. Полученные результаты титрования, сравнивая с результатами титрования индивидуальных таблеток, полностью совпадают. Для титрования шло 0,75-0,76 мл 0,1 N раствора калия перманганата.

Еще применяли метод, при котором таблетки измельчали. Точную навеску, близкую к навеске таблетки 0,39-0,40, раст-



воряли в 5 мл воды и прибавляли 15 мл разведенной серной кислоты. Полученный раствор титровали 0,1 N раствором калия перманганата. Получили вполне удовлетворительные результаты.

1 мл 0,1 N раствора калия перманганата расходовалось на титрование трифазина, имеющегося в таблеточной массе, в среднем 0,4960 г. Максимальные колебания составляли +0,0012 и -0,0008. Относительная ошибка определения при математическо-статистическом анализе 0,88%. К сожалению, нам не было подробно известно, какие применяли вспомогательные, дополнительные и покрывающие вещества и в каких количествах их применяли при таблетировании. Поэтому изготавливали из возможных компонентов модельные смеси с разным составом. Смеси вспомогательных веществ, которые были близки к весу таблетки, взбалтывали в воде и окисляли разведенной серной кислотой. Прибавляли 2 капли 0,1 N раствора калия перманганата. Сильно розовый цвет сохранился в течение 1 минуты. А затем брали 10 и более кратное количество таблетки, раствор обесцветивался в розовый цвет от двух капель 0,1 N раствора калия перманганата в течение 30 секунд.

Из этого следует, что вспомогательные вещества в составе таблетки в определенных количествах не мешают титрованию и не влияют на результаты титрования.

На основании проведенных работ можно сказать, что самым подходящим методом для количественного определения трифазина в порошке, в таблетках и в драже является цериметрический метод и в меньшей мере по точности определения подходит перманганометрический метод. Поскольку цериметрический метод не всегда пригоден, можно применять перманганометрический метод.

#### Литература

1. Basinska, H., Nowakowski, K. - "Oznaczenie pochodnych fenotiazyny metoda cerometryczna". Acta Poloniae pharmaceutica, 1972, N 5, 459-464.
2. Dembinski, B., Nowakowski, K. - "Badania nad analitycznym oznaczaniem pochodnych fenotiazyny". "Kompleksometryczne oznaczanie lewomepromazyny-1-chlorowodorku tiorydazyny". Farmacja Polska, 1972, N 9, 889-893.
3. Bauer, H., Moll, H. "Die organische analyse", Berlin, 1960, S. 242.

4. Blazek, J., Travincova, M. - "Analytika studie leziv ze skupiny fenothiazinovyh derivatu", "Vazkove a spektrofotometricke stanoveni s kyselinou wolframo-fosforecnou". Ceskoslovenska farmacie, 1972, N 10, 436-441.
5. Tarasiewicz, M. - " Oznaczanie pochodnych fenotiasyny" Wykorzystanie kompleksow Zela 20 W...rodankowych do kolorymetrycznego oznaczania chloropromazyny, levomepromazyny I prometazyny", Acta Polonia pharmaceutica, 1972, N 6, 583-589.
6. Noerdin, I., Madyar Inst. Technol. Bandung Proc 3, 63, 1964.
7. Плигин С., Сизова И. Фототурбидиметрическое определение динезина. - "Фармация", 1974, № 3, с. 63-72.
8. Blazek, J. - "Anwendung von Phenothiazinderivaten in der Analytik". Die Pharmazie, 1971, N 7, S. 425-430.
9. Халимов Н.Б. - "Теория эксперимента", М., 1971, с. 124-129.
10. Wagner, G. - "Lehrbuch der pharmaceutischen chemie", Berlin, 1960, S. 390.
11. The Hungarian Pharmacopoeia, Volume III, Budapest, 1970.
12. Карнишаускайте Г.А. Исследование в области химико-фармацевтического анализа производных фентазина. Автореф. канд. дисс. Тарту, 1966.
13. Международная фармакопея. Издание II. М., 1969.
14. Государственная фармакопея СССР. М., 1968.

# VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNG DER OXIDIMETRISCHEN BESTIMMUNG DES TRIFTAZINS

K. Annuk, B. Luik

## Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wurden die chemischen Eigenschaften des Präparats Triftazin im Vergleich zu den Eigenschaften andere Fenothiazinderivate untersucht, um die genannten Eigenschaften für die quantitative Bestimmung des Triftazins zu verwenden. Es wurden Experimente mit oxidimetrischen Methoden, wie Zerimetrie, Jodometrie und Permanganometrie, durchgeführt. Auf Grund der Ergebnisse der Experimente wurden für die Bestimmung des Präparats in Pulver, Tabletten und Dragees Zerimetrie und eine von den Autoren ausgearbeitete permanganometrische Methode vorgeschlagen. Bei der Letzten Methode ist der relative Fehler kleiner als 0,88 %. Der relative Fehler bei der Zerimetrie ist noch kleiner (ca 0,18 %), aber die permanganometrische Methode ist ökonomischer. Mit Jodometrie wurden keine realen Resultate erzielt.

## ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА ПРОСТАГЛАНДИНА $E_2$ НА ИЗОЛИРОВАННУЮ ТОНКУЮ КИШКУ И МАТКУ КРЫС

О. Раявэ, Э. Ханссон, Т. Линрикус

Простагландины (ПГ), в том числе и ПГ $E_2$ , являются биологически активными веществами, обладающими широким спектром фармакологического действия. ПГ $E_2$  вызывает сокращение изолированных отрезков желудка и кишечника разных экспериментальных животных, усиливает двигательную активность кишечника у людей /1, 2, 6 и др./. На матку ПГ $E_2$  оказывает преимущественно стимулирующее действие. Препараты ПГ $E_2$ , как простин  $E_2$  (фирмы Upjohn, США), применяют в акушерстве и гинекологии /3, 4, 7/. До сих пор нет отечественного препарата ПГ $E_2$  для применения в клинике. В настоящее время в Институте химии АН Эст. ССР (под руководством Ю.Э. Лилле) изготовлен препарат ПГ $E_2$  — он выпускается в ампуле, содержащей 1 мг ПГ $E_2$  в 1 мл абсолютного этанола. Препарат оказывает **активное** фармакологическое действие и результаты его исследования будут представлены фармакологическому комитету МЗ СССР для получения разрешения для клинической апробации этого препарата ПГ $E_2$ /5/.

Целью настоящей работы явилось изучение характера и механизма действия этого препарата ПГ $E_2$  на изолированные отрезки матки и кишки крыс, а также выяснение возможного антагониста ему.

### Метод и материалы

Опыты проводились на изолированной матке и тонкой кишке белых крыс по методу Магнуса. Питательным раствором служил раствор Рингера-Докке. Препарат ПГ $E_2$  растворяли в питательном растворе перед употреблением. Результаты регистрировались на закопченной ленте кимографа.

На рисунках (кимограммы): верхняя кривая — изотоническая запись сокращений отрезка матки или тонкой кишки; нижняя — отметка времени в секундах (интервал 3 сек.). На линии времени отмечены места введения вещества, а на ленте — название вещества и концентрации.

## Результаты опытов

Опыты на изолированной матке. ПГЕ<sub>2</sub> стимулирует деятельность матки крысы. Кратковременный эффект отмечается уже при концентрации  $10^{-9}$ . Постоянное увеличение амплитуды сокращения получено при концентрации  $10^{-8}$ , которая вызывает и некоторое повышение тонуса при введении ПГЕ<sub>2</sub> на фоне активно и регулярно сокращающейся матки (рис. 1); при низкой амплитуде

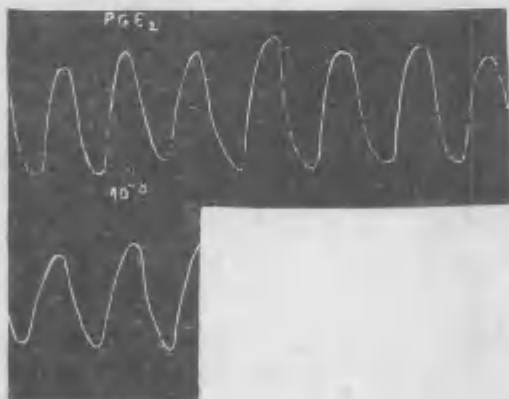


Рис. 1. Изолированный отрезок матки крысы. ПГЕ<sub>2</sub> ( $10^{-8}$ ) повышает амплитуду сокращения

и нерегулярном ритме введения ПГЕ<sub>2</sub> ( $10^{-8}$ ) вызывает увеличение амплитуды и регулярный ритм сокращения. Более высокие концентрации ( $10^{-7}$ ) заметнее повышают тонус с последующими регулярными высокоамплитудными сокращениями (рис. 2). Дальнейшее увеличение концентрации ( $10^{-5}$ ,  $10^{-3}$ ) вызывает преимущественно повышение тонуса до сокращения тетанического характера (рис. 3). На фоне действия окситоцина (в концентрациях 0,0001 до 0,01 И.Е. в 1 мл) ПГЕ<sub>2</sub> вызвало увеличение стимулирующего эффекта (рис. 4), что при более высоких концентрациях (окситоцин 0,01 И.Е. в 1 мл и ПГЕ<sub>2</sub>  $10^{-7}$ ) выражается в основном в повышении тонуса матки. Прогестерон ( $10^{-4}$ ) вызывает понижение активности матки. На фоне действия прогестерона введение ПГЕ<sub>2</sub> ( $10^{-7}$ ) оказывает стимулирующий эффект. Повторное введение прогестерона понижает сократительную деятельность матки, а прибавление ПГЕ<sub>2</sub> ( $10^{-6}$ ) снимает подавляющий эффект прогестерона (рис. 5). Физостигмин ( $5 \cdot 10^{-5}$ ) и

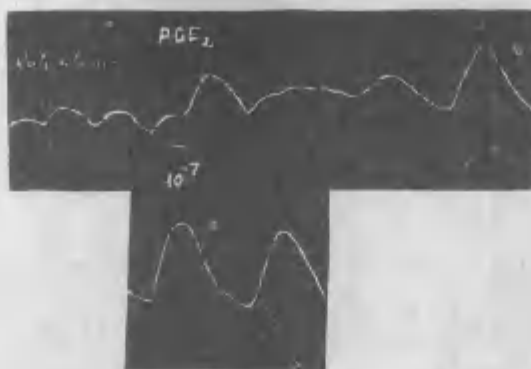


Рис. 2. Изолированный отрезок матки крыс. ПГЕ<sub>2</sub> (10<sup>-7</sup>) вызывает повышение тонуса и регулярные глубокие сокращения



Рис. 3. Изолированный отрезок матки крыс. ПГЕ<sub>2</sub> (10<sup>-3</sup>) преимущественно повышает тонус

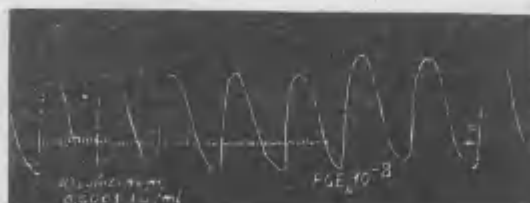


Рис. 4. Изолированный отрезок матки крыс. ПГЕ<sub>2</sub> (10<sup>-3</sup>) потенцирует действие окситоцина (0,0001 И.Е. в 1 мл)

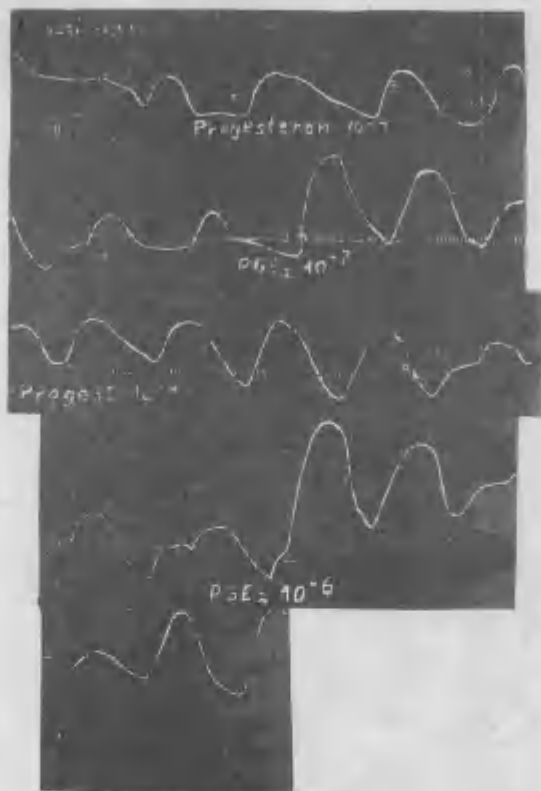


Рис. 5. Изолированный отрезок матки крыс.  $\text{ПГЕ}_2$  оказывает антагонистический эффект на подавляющее действие прогестерона ( $10^{-4}$ )

атропин ( $5 \cdot 10^{-5}$ ) на фоне действия  $\text{ПГЕ}_2$  ( $10^{-8}$ ) не вызывают изменения сократительной деятельности и тонуса матки крыс. Папаверин ( $5 \cdot 10^{-5}$ ) на фоне действия  $\text{ПГЕ}_2$  ( $10^{-7}$ ) полностью снимает сокращения и тонус матки (рис. 6).

Опыт на изолированной тонкой кишке.  $\text{ПГЕ}_2$  стимулирует тонкую кишку крыс при концентрации  $10^{-9}$ . Особенно заметен эффект при пониженном тонусе кишки. Высокие концентрации  $\text{ПГЕ}_2$  ( $10^{-8}$  -  $10^{-6}$ ) вызывают сначала усиленные сокращения и более высокие концентрации ( $10^{-3}$ ), в основном повышение тонуса

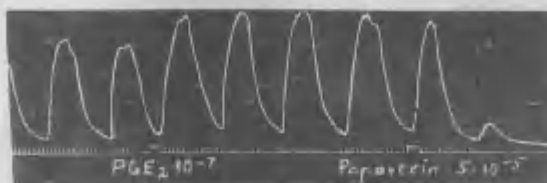


Рис. 6. Изолированный отрезок матки крыс. Действие  $\text{ПГЕ}_2$  ( $10^{-7}$ ) полностью снимается папаверином ( $5 \cdot 10^{-5}$ )

са кишки. Физостигмин ( $10^{-4}$ ) на фоне действия  $\text{ПГЕ}_2$  ( $5 \cdot 10^{-9}$ ) незначительно повышает тонус, но значительно повышает амплитуду сокращения тонкой кишки; прибавление атропина ( $5 \cdot 10^{-5}$ ) вызывает лишь небольшое понижение тонуса и амплитуды сокращения кишки (рис. 7). При этом уменьшение активности кишки

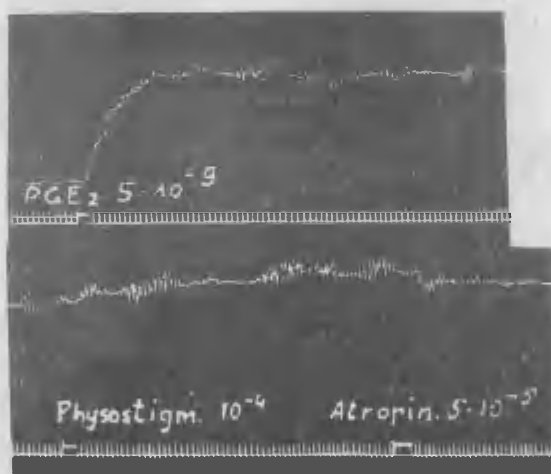


Рис. 7. Изолированный отрезок тонкой кишки крыс. На фоне действия  $\text{ПГЕ}_2$  ( $5 \cdot 10^{-9}$ ) физостигмин ( $10^{-4}$ ) незначительно повышает активность, а прибавление атропина ( $5 \cdot 10^{-5}$ ) в такой же мере уменьшает активность кишки

соответствует повышению тонуса и амплитуды физостигмином. На



фоне действия  $\text{ШЕ}_2$  ( $10^{-8}$ ) введение атропина ( $5 \cdot 10^{-5}$ ) в некоторой мере понижает тонус (рис. 8). На фоне действия ат-



Рис. 8. Изолированный отрезок тонкой кишки крыс. Действие  $\text{ШЕ}_2$  ( $10^{-8}$ ) незначительно подавляется введением атропина ( $5 \cdot 10^{-5}$ )

ропина ( $5 \cdot 10^{-5}$ )  $\text{ШЕ}_2$  стимулирует деятельность кишки, также после повторного введения атропина (рис. 9). Папаверин ( $5 \cdot 10^{-5}$ ) оказывает подавляющее действие на стимулирующий эффект  $\text{ШЕ}_2$  ( $10^{-8}$ ,  $10^{-3}$ ) тонкой кишки (рис. 10) — полностью снимаются амплитуда сокращения и тонус тонкой кишки. На фоне действия

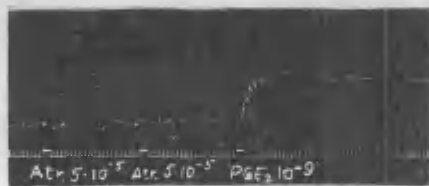


Рис. 9. Изолированный отрезок тонкой кишки крыс. На фоне действия атропина  $\text{ШЕ}_2$  ( $10^{-9}$ ) стимулирует кишку



Рис. 10. Изолированный отрезок тонкой кишки крыс.  
Действие  $\text{ШЕ}_2$  ( $10^{-8}$ ) полностью снимается  
введением папаверина ( $5 \cdot 10^{-5}$ )

папаверина ( $5 \cdot 10^{-5}$ )  $\text{ШЕ}_2$  ( $10^{-8} - 10^{-6}$ ) также при повторном введении не в состоянии стимулировать полностью расслабленную кишку (рис. 11). Стимулирующий эффект  $\text{ШЕ}_2$  на кишку вос-

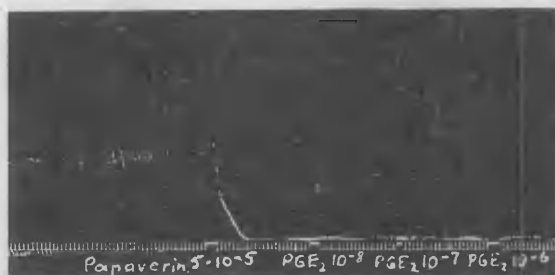


Рис. 11. Изолированный отрезок тонкой кишки крыс.  
Повторное введение  $\text{ШЕ}_2$  не в состоянии  
стимулировать расслабленную папавери-  
ном ( $5 \cdot 10^{-5}$ ) кишку

становливается после промывания кишки раствором Рингера от папаверина.

#### Обсуждение

Результаты исследования показывают, что препарат  $\text{ШЕ}_2$  уже в минимальных концентрациях в состоянии стимулировать сократительную деятельность и тонус изолированных отрезков матки и тонкой кишки крыс. При этом пороговая концентрация

для стимуляции кишки меньше, чем для стимуляции матки. При действии на матку ПГЕ<sub>2</sub> оказался синергистом окситоцина и антагонистом прогестерона, что свойственно и другим препаратам ПГЕ<sub>2</sub> /1, 3, 7 и др./; действие физостигмина и атропина не изменяли действия ПГЕ<sub>2</sub> на матку крыс. Сильный стимулирующий эффект ПГЕ<sub>2</sub> на отрезки тонкой кишки крыс лишь незначительно увеличивается под действием холиномиметика физостигмина и в той же мере уменьшается м-холинолитиком атропином. Папаверин оказался универсальным антагонистом для ПГЕ<sub>2</sub> при его действии на изолированную матку и тонкой кишки крыс. Очевидно, что в механизме стимулирующего эффекта на изученные органы играет самую важную роль непосредственное действие ПГЕ<sub>2</sub> на мембраны гладкомышечных клеток или на миофибриллы. Некоторое, но гораздо меньшее значение при действии ПГЕ<sub>2</sub> на кишки имеет и синергизм ПГЕ<sub>2</sub> с холиномиметиками. Возможно, что влияние ПГЕ<sub>2</sub> на холинэргическую систему является основой для повышенной реактивности тонкой кишки на ПГЕ<sub>2</sub>. Известно, что ПГ могут вызвать такие побочные явления, как тошнота, рвота, понос и др., которые могут препятствовать применению ПГЕ<sub>2</sub> в нужной дозировке. В таких случаях от применения атропина можно ожидать терапевтического эффекта, а при сильных коликах, вызванных препаратом ПГЕ<sub>2</sub>, можно рекомендовать применение папаверина.

#### Выводы

1. Препарат ПГЕ<sub>2</sub> оказывает стимулирующее действие на изолированные отрезки матки (при концентрации  $10^{-8}$ ) и тонкой кишки (при  $10^{-9}$ ) крыс.
2. При действии на матку ПГЕ<sub>2</sub> оказывает синергистический эффект с окситоцином и антагонистический — с прогестероном.
3. Действие ПГЕ<sub>2</sub> на тонкую кишку слабо подавляется атропином и в той же мере усиливается физостигмином.
4. Папаверин является сильным антагонистом ПГЕ<sub>2</sub> как для матки, так и для тонкой кишки крыс.

## Литература

1. Ажгихин М.С. (под ред.). Простагландины. М., "Медицина", 1978.
2. Машковский М.Д. - Фармакология и токсикология, 1974, 37, I, с. 109-116.
3. Персианинов Л.С. Роль простагландинов  $PG_2$  и  $E_2$  в возбуждении и стимуляции родовой деятельности. - В кн.: Простагландины в эксперименте и клинике. М., 1978, с. 34-35.
4. Радбиль О.С. Простагландины. - "Фармация", 1976, 25, 4, с. 69-76.
5. Раявэе О.Л., Лилле Ю.Э., Аренд Ю.Э., Ханссон Э.Ю., Хинрикус Т.А., Оттер М.Я., Ягомяги А.Э. О фармакологическом действии препарата простагландин  $E_2$ . - В кн.: Простагландины в эксперименте и клинике. М., 1978, с. 61-63.
6. Euler, U.S.v., Arch. f. experim. Path. u. Pharmacologie, 1934, 175, S. 78-84.
7. Goodman, L.S., Gilman, A., The Pharmacological Basis of Therapeutic, New York, 1975.

### THE ACTION OF $PGE_2$ -PREPARATION ON THE UTERUS AND SMALL INTESTINE OF ISOLATED RATS

O. Rayavee, E. Hansson and T. Hinrikus

#### S u m m a r y

$PGE_2$ -preparation produce a stimulation uterus and small intestine of isolated rats. The preparation has a synergistic effect on the uterus with oxytocine and an antagonistic effect with progesterone. Physostigmine was possible in a minimal degree to raise and atropine - in the same degree to diminish the stimulating action of  $PGE_2$  on the small intestine. The stimulating effects of  $PGE_2$ -preparation on the uterus and small intestine of isolated rats were completely inhibited by papaverine.

## ВЛИЯНИЕ НЕЙРОЛЕПТИКОВ НА СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ ПРИ ОДНОКРАТНОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ

Л. Алдикметс, М. Оттер, Т. Хинрикус, А. Карковский

Среди психотропных средств центральное место принадлежит нейролептикам, введение которых вызывает у подопытных животных торможение моторики и каталепсию, вследствие блокады дофаминовых рецепторов в центральной нервной системе /4, 5, 9, II/. Блокада рецепторов по механизму обратной связи вызывает повышение синтеза и катаболизма дофамина /2, 3/. Наряду с этим относительно мало известно о влиянии нейролептиков на другие медиаторные системы, в частности на серотонинергическую. В настоящей работе в опытах на крысах изучалось влияние нейролептиков на катаболизм серотонина при их однократном и хроническом введении.

### Материалы и методика

Опыты проводились на 185 белых крысах-самцах линии Вистар массой тела 200-250 г., разделенных на группы по 8-10 животных в каждой. Нейролептики - галоперидол, левомепромазин и флуфеназин - вводили внутривенно однократно или в течение 5, 10, 15 дней (1 раз в сутки). Интенсивность каталепсии определяли спустя 2 и 24 часа после введения веществ. Животных помещали передними лапами на горизонтальный стержень, находящийся на высоте 8 см от пола. Определяли время (в секундах) удержания крысы в таком положении. Сразу после определения каталепсии животных декапитировали. Мозг вынимали и на льду отделяли передний мозг (кору, таламус, лимбическую систему и хвостовое ядро) /1/. Эти определения серотонина (5-ОТ) и 5-оксиндоуксусной кислоты (5-ОИУК) проводилось только в одной половине мозга по методу Карзон и Грин /7/ с помощью флуоресцентного спектрофотометра МРФ-2А фирмы "Хичати".

### Результаты и обсуждение

Из таблиц видно, что как во влиянии на содержание 5-ОТ и 5-ОИУК, так и в поведенческих эффектах нейролептики имеют сходство и существенные различия. С другой стороны, нейролептики незначительно изменяют уровень серотонина, особенно

при однократном введении, оказывая более выраженное влияние на содержание метаболита. На это обращают внимание и другие авторы /1/, которые подчеркивают, что повышение содержания 5-ОИУК значительно в хронических экспериментах.

Спустя 2 часа после однократного введения галоперидола в дозе 1 мг/кг у крыс развивалась каталепсия, которая затем постепенно снижалась, оставаясь, однако, спустя 24 часа немного выше, чем в контроле. Наступление каталепсии сопровождалось незначительным повышением содержания 5-ОТ. Некоторые авторы /6/ связывают антискизофреническое действие нейролептиков повышением синтеза 5-ОТ. Однократное введение левомепромазина также вызывало каталепсию спустя 2 часа после его введения. Каталептогенный эффект левомепромазина, однако, в отличие от галоперидола, был меньше выражен и исчезал быстрее. Развитие каталепсии после однократного введения левомепромазина сопровождалось усилением как биосинтеза, так и катаболизма 5-ОТ. При исчезании каталепсии содержание и катаболизм 5-ОТ понижается. При введении флуфеназина только через 24 часа наблюдалось выраженное усиление катаболизма серотонина, о чем свидетельствует повышение содержания 5-ОИУК.

Различия между нейролептиками связаны, видимо, с тем, что если галоперидол обладает сильным каталептогенным и антиагрессивным действием, то у левомепромазина наряду с относительно слабым каталептогенным действием на первый план выступает выраженная транквилизирующая активность, что при однократном введении именно коррелируется с повышением уровня 5-ОИУК. По-видимому, транквилизирующий эффект левомепромазина можно объяснить его влиянием на активность серотонинергической системы ЦНС.

Спустя 5, 10 и 15 дней после хронического введения левомепромазина способность вещества вызывать каталепсию по сравнению с однократным введением уменьшалась (табл. I). В то же время содержание серотонина в переднем мозге проявляло тенденцию к повышению как 2 ч., так и 24 ч. после последнего введения нейролептика. Галоперидол при хроническом введении оказывал более выраженное действие на содержание 5-ОИУК, чем при однократном введении. Спустя 10 дней после хронического введения галоперидола способность вызывать каталепсию по сравнению с однократным уменьшалась, а затем снова повышалась и через 15 дней (24 ч.) достигала уровня, соответствующего однократному введению. Эти поведенческие эффекты сопро-

Т а б л и ц а I

Влияние однократного и хронического введения (5, 10, 15 дней) тиакоперадола  
и левопромазина (1 мг/кг) на уровень каталазы (сек)

| Вещество                  | Время после<br>введения<br>(час) | Однократн. | Для хронического введения |           |           |
|---------------------------|----------------------------------|------------|---------------------------|-----------|-----------|
|                           |                                  |            | 5                         | 10        | 15        |
| Контроль, физ.<br>раствор | 2                                | 1,0±0,2    |                           |           |           |
|                           | 24                               | 0,9±0,3    |                           |           |           |
|                           | 2                                | 110,0±19,0 | 102,5±17,8                | 71,4±16,5 | 46,5±13,4 |
|                           | 4                                | 177,5±65,0 |                           |           |           |
|                           | 6                                | 113,0±30,0 |                           |           |           |
| Тиакоперадола             | 12                               | 22,5±8,6   |                           |           |           |
|                           | 24                               | 5,4±2,1    | 3,1                       | 3,3       | 5,5       |
| Левопромазин              | 2                                | 8,8±2,1    | 4,0±1,0                   | 3,3±0,9   | 6,5±1,8   |
|                           | 4                                | 14,2±4,3   |                           |           |           |
|                           | 6                                | 10,7±5,3   |                           |           |           |
|                           | 12                               | 3,3±1,6    |                           |           |           |
|                           | 24                               | 0          | 8,0                       | 1,9       | 3,2       |

Т а б л и ц а 2

Влияние однократного и хронического введения (5, 10, 15 дней) галоперидола, левомепромиазина (1 мг/кг) и флуфеназина (10 мг/кг) на содержание серотонина (5-OT) и 5-оксиндолоуксусной кислоты (5-ОДУК) в переднем мозге крыс. Приведены средние арифметические содержания амина и метаболита в  $\mu\text{г/г}$ -ах, от контроля для групп крыс (8-10 животных)

| Вещество        | Время после введения (час) | Однократное введение |        | 5 день |        | 10 день |        | 15 день |        |
|-----------------|----------------------------|----------------------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|
|                 |                            | 5-OT                 | 5-ОДУК | 5-OT   | 5-ОДУК | 5-OT    | 5-ОДУК | 5-OT    | 5-ОДУК |
| Галоперидол     | 2                          | 109,4                | 76,1   | 164,5* | 100,0  | 110,4   | 115,4  | 96,9    | 133,3* |
|                 | 24                         | 100,0                | 100,0  | 125,8* | 92,5   | 108,8   | 104,3  | 99,3    | 90,5   |
| Левомепромиазин | 2                          | 104,8                | 118,6* | 100,0  | 100,0  | 126,2*  | 79,2   | 93,0    | 142,9* |
|                 | 24                         | 93,0                 | 74,0   | 68,5   | 122,9* | 110,9   | 242,1* | 110,0   | 115,4  |
| Флуфеназин      | 2                          | 95,9                 | 75,0   | 110,4  | 300,0* | 74,6    | 147,6* | -       | -      |
|                 | 24                         | 103,4                | 136,0* | -      | -      | -       | -      | -       | -      |

Примечание: \* обозначено достоверное различие от контрольных групп



вождались ускорением катаболизма серотонина, о чем говорит повышение содержания 5-ОИУК. Из вышеизложенного можно сделать вывод, что к десятому дню хронического введения нейролептиков происходит повышение толерантности индоламинергических механизмов к действию нейролептиков, что выражается в снижении катаlepsии и некотором уменьшении (при введении фенотиазиновых нейролептиков) содержания 5-ОИУК. К 15 дню введения толерантность не так заметна и повышается уровень содержания 5-ОИУК. Эти данные косвенно указывают, что каталептогенное действие галоперидола и левомепромазина каким-то образом связано с блокадой серотониновых рецепторов в центральной нервной системе. Повышение уровня изученных индоламина и его метаболита после введения нейролептиков вызвано ускорением биосинтеза и катаболизма медиатора путем обратной связи в результате блокады пре- и постсинаптических серотониновых рецепторов /8, 10, 11/. Уотерс и Сиймен утверждают, что крысы могут приобретать и терять толерантность против катаlepsии, вызванной галоперидолом, причем толерантность двухфазная. Следовательно, нельзя отрицать влияние нейролептиков на серотонинергическую систему, хотя доказательства этого действия в ЦНС косвенные.

В 1976 г. Бендером и др. и другими авторами /6, 8/ показано, что введение нейролептика аминазина крысам вызывает уменьшение в концентрации триптофана в сыворотке, что сопровождается повышением содержания триптофана в мозге и в результате этого — повышением синтеза 5-ОТ. По данным этих авторов, многие антипсихотические вещества вызывают подобные изменения в крови и в мозге. Возможно, что сдвиги в содержании серотонина после введения нейролептиков связаны с повышенным переходом предшественника серотонина триптофана из крови в мозг. Представляется, что именно в этом направлении интересно продолжать работу.

#### Литература

1. Алликметс Л.Х., Жарковский А.М. Бюлл. эксп. биол. мед., 1974, 2, с. 134.
2. Алликметс Л.Х., Жарковский А.М., Курвиге Х.Х. — В сб.: Фармакология и токсикология новых продуктов химического синтеза. Минск, 1975, с. 72-73.
3. Алликметс Л.Х., Жарковский А.М., Оттер М.Я., Хинрикус Т.Х. (статья в настоящем сборнике).

4. Курвиге Х.Х., Алликметс Л.Х., Жарковский А.М. - В кн.: Материалы совещания по актуальным проблемам психофармакологии, Тарту, 1976, с. 56-58.
5. Раевский К.С. Фармакология нейролептиков. М., "Медицина", 1976.
6. Bender, D.A., Cockcroft, P.M. Biochem. Soc. Trans., 1977, v. 5, 653-655.
7. Curson, G., Green, A.R. Brit. J. Pharmacol., 1970, v.39, 3, 653-655.
8. Grabowska, M. Pol. J. Pharmacol. Pharm., 1976, 28, 253-257.
9. Honma, T., Fukushima, H. Neuropharmacol., 1976, v. 15, 601-607.
10. Jacoby, J.H., Shabshelowitz, H., Fernstrom, J.D., Wurtman, R.J. J. Pharmacol. Exp. Therap., 1975, v. 195, 2, 257-264.
11. Stralendorff, B. von , Ackenheil, M., Zimmermann, J. Arzneim. Forsch., 1976, 26, 6, 1096-1098.
12. Waters-Ezrin C., Seeman P. Europ. J. Pharmac., 1977, 41, 3, 321-327.

# EFFECT OF NEUROLEPTICS ON THE SEROTONINERGIC SYSTEM IN CASE OF SINGLE AND LONG-TERM ADMINISTRATION

L. Allikmets, M. Otter, T. Hinrikus, A. Zharkovsky

## S u m m a r y

Haloperidol, levomepromazin and flufenazin (1-10 mg/kg i.p.) were administrated single and chronic for 5, 10 and 15 days to 185 male albino Wistar rats. After 2 and 24 hours the 5-HT and 5-HIAA content of the forebrain was measured using the spectrophotofluorometric procedure. The neuroleptics produced catalepsy in animals, but after 10 days tolerance developed to them. The alteration of tolerance was accompanied by instability of 5-HT and 5-HIAA levels which confirms the idea about the participation of the serotonergic system in neuroleptic effects.

## ГОДОВАЯ ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ СЕРТОНИНА И ЕГО МЕТАБОЛИТА В МОЗГЕ КРЫС

Л. Нурманд, М. Оттер

В последние десятилетия в центре внимания многих исследований находится один из нейромедиаторов и тканевых гормонов — серотонин. Причиной этому является обстоятельство, что серотонин обладает чрезвычайно широким диапазоном физиологического действия на функции нервной, сердечно-сосудистой, эндокринной и мочеполовой системы, оказывает влияние на деятельность органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, печени и селезенки (3).

В нашем распоряжении оказались данные серийных опытов (1972—1976 гг.) для изучения специальных вопросов психофармакологии, в ходе которых определялся серотонин в мозге крыс. В этих исследованиях контрольные опыты с интактными животными отражают биологическую норму содержания индоламинов. При обработке накопившегося за 5 лет материала о содержании серотонина (5-ОТ) и оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) мы отметили варьирование контрольных данных в течение года. Это наблюдалось несмотря на то, что животные содержались в стандартных условиях температуры и освещенности вивария, при одинаковом питьевом и кормовом режиме, операцию для получения материала производили всегда в одно и то же время дня (10<sup>00</sup>) и содержание 5-ОТ и 5-ОИУК определялось по стандартной методике. В единичных месяцах всех годов варьирование повторялось однонаправленно. Все указывало на то, что эти вариации отражают сезонное колебание содержания серотонина.

### Материал и методика

Накопленные ранее данные (1972...1976 гг) были дополнены систематическими опытами в течение 21 месяца (п 1977 по X 1978) на белых крысах линии Вистар, весом 250...300 г. За весь период исследования проанализировано свыше 300 животных. 5-ОТ и 5-ОИУК определялись в переднем мозге и стволе мозга по спектрофлуорометрической методике (4). Содержание выражали в микрограммах на г сырого веса мозговой ткани.

## Результаты и обсуждения

Среднее годовое содержание 5-ОТ в переднем и межуточном мозге крыс в опытном периоде и в предыдущие годы практически одинаковы, поэтому ниже приводятся данные только опытного периода.

Т а б л и ц а

Содержание 5-ОТ и 5-ОИУК в переднем мозге крыс, мкг/г

| Месяц                           | 5-ОТ            | 5-ОИУК          | Соотношение<br>5-ОТ/5-ОИУК |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|----------------------------|
| I                               | 0,46 $\pm$ 0,03 | 0,37 $\pm$ 0,06 | 1,24                       |
| II                              | 0,46 $\pm$ 0,02 | 0,46 $\pm$ 0,09 | 0,98                       |
| III                             | 0,55 $\pm$ 0,09 | 0,45 $\pm$ 0,08 | 1,22                       |
| IV                              | 0,39 $\pm$ 0,06 | 0,35 $\pm$ 0,08 | 1,11                       |
| V                               | 0,86 $\pm$ 0,12 | 0,42 $\pm$ 0,04 | 2,04                       |
| VI                              | 0,88 $\pm$ 0,14 | 0,46 $\pm$ 0,07 | 1,96                       |
| VII                             | 0,75 $\pm$ 0,01 | 0,33 $\pm$ 0,06 | 2,27                       |
| VIII                            | 0,60 $\pm$ 0,10 | 0,30 $\pm$ 0,05 | 2,00                       |
| IX                              | 0,47 $\pm$ 0,06 | 0,40 $\pm$ 0,05 | 1,18                       |
| X                               | 0,51 $\pm$ 0,06 | 0,37 $\pm$ 0,08 | 1,37                       |
| XI                              | 0,40 $\pm$ 0,06 | 0,39 $\pm$ 0,05 | 1,03                       |
| XII                             | 0,58 $\pm$ 0,06 | 0,50 $\pm$ 0,04 | 1,16                       |
| Годовое<br>среднее              | 0,58 $\pm$ 0,07 | 0,40 $\pm$ 0,06 | 1,58                       |
| Среднее<br>V, VI, VII           | 0,83 $\pm$ 0,09 | 0,40 $\pm$ 0,06 | 2,08                       |
| Среднее<br>остальных<br>месяцев | 0,49 $\pm$ 0,06 | 0,40 $\pm$ 0,06 | 1,23                       |

В течение года содержание 5-ОТ в переднем мозге существенно изменяется - в летние месяцы (V, VI, VII), но и в XII среднее его содержание достоверно выше ( $P < 0,05$ ) среднего других месяцев. Содержание основного метаболита серотонина 5-ОИУК остается при этом практически на одном уровне. В стволе мозга в летние месяцы (V, VI, VII) содержание 5-ОТ и 5-ОИУК превышало на 104% и 34%, соответственно, концентрацию этих веществ в остальные месяцы года.

Уровень серотонина повышается при сравнительно одинаковом уровне катаболизма, т.е., по-видимому, окислительное де-

заминирование, катализируемое моноаминоксидазой (МАО), не стимулируется. Это согласуется и с литературными данными /10/. Наши результаты аналогичны данным Garattini, Valzelli /5/, которые нашли пик содержания 5-ОТ и 5-ОИМК в целом мозге мышей в летние месяцы. Знаменская и Чернов /1/ также находят, что уровень серотонина в крови собак в летние месяцы два раза выше, чем в зимние.

Относительно хорошо изучены суточные колебания содержания 5-ОТ, причем описана характерная двугорбая кривая его концентрации в крови с максимумами в 12 ... 15 и 18 ... 21 час /1, 2, 7, 12, 13/.

Показано, что суточные изменения содержания серотонина лучше выражены в целом мозге, чем в переднем /15, 16, 17/, так как центр управления ритмами находится в гипоталамусе.

Относительно сезонного ритма содержания 5-ОТ данные гораздо скуднее. Причиной этому может быть обстоятельство, что сезонные изменения требуют исследований минимально в течение 5 лет /11, 14/. В суточном изменении индоляного обмена решающую роль играет активность серотонин-коэнзим-А-Н-ацетилтрансферазы /6/, которая ацетилюет серотонин в Н-ацетилсеротонин, и чья активность регулируется норадреналином через  $\beta$ -адренорецепторы /8, 9, 14/. Суточный ритм содержания серотонина в мозге крыс зависит также от флуктуации активности декарбоксилазы серотонина, которая находится под контролем конкуренции за энзимой между катехоламинами с предшественниками и серотином.

Поскольку роль серотонина в формировании различных физиологических проявлений значительна, то учет сезонности оборота серотонина в мозге важен не только при анализе конкретных результатов определения его содержания, но и при интерпретации экспериментальных данных в самом широком плане.

#### Литература

1. Знаменская К.М., Чернов Т.А.-Бюлл.эксп. биол. мед., 1969, 67, 6, 67.
2. Ильичева Р.Ф. Автореф. дисс.канд. биол. наук. М., 1975.
3. Курский М.Д., Бакшеев Н.С. Биохимические основы механизма действия серотонина. Киев, 1974.
4. Оттер М.Я. Изв. АН ЭССР., Биология, 1978, 27, 2, 125.

5. Garattine, S., Valzelli, L., Serotonin. Elsevier Publ. Co Amsterdam, 1965.
6. Deguchi, T., Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 1975, 72, 2814.
7. Doshi, E.C., Hyggins, S.E., Fitzgerald, J.M. Comp. Biochem. Physiol., 1975, 51, 2C, 227.
8. Klein David C., Weller Joan L. Science, 1970, 169, 5950, 1093.
9. Klein David C., Weller Joan L., Moore Robert Y. Proc.Nat. Acad. Sci. USA, 1971, 68, 12, 3107.
10. Quay, W.B. Physiol. Zool, 1970, 43, 1, 90.
11. Sasaki, T., Carlson L.D., Proc. Soc. Exp. Biol.Med., 1964, 117, 332.
12. Schreiber, R.A., Schlesinger, K. Phys. and Behav, 1970, 6, 35.
13. Snyder, S.H., Axelrod, F., Zweig, M. J. Pharmacol. and Exptl. Therap, 1967, 158, 2, 206.
14. Stupfel, M. Biomedicine, 1975, 22, 105.
15. Walker, C.A., Friedman, A.H. Pharmacol., 1968, 9, 236.
16. Walker, C.A. Intern. J. Chronobiol., 1974, 2, 205.
17. Yates, C.A, Herbert, J. Nature, 1976, 262, July 15, 219.

# THE ANNUAL DYNAMICS OF SEROTONIN AND ITS METABOLITE CONTENT IN THE RAT BRAIN

L. Nurmand, M. Otter

## S u m m a r y

The seasonal changes in serotonin and its metabolite content in the forebrain and brain stem were studied in about 300 male albino Wistar rats. The experiments were carried out monthly for a period of 6 1/2 years. The serotonin content in the rat brain varied significantly during the year with maximal levels in the summer months (May, June, July). The annual variations of serotonin metabolism via formation 5-HIAA were not so marked.

## ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ГЛАДКИЕ МЫШЦЫ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА КРЫС

С. Юриссон, А. Жарковский

В настоящее время появились сообщения, что эффекты дофамина (ДА) на тонус сосудов связан с его влиянием на специфические дофаминовые рецепторы, находящиеся в гладких мышцах стенки сосудов (Goldberg, 1975). Согласно данным других авторов эффекты ДА на сосуды и сердце связаны с его действием на  $\beta$ -адренорецепторы (Endoh, 1975, Morishita, Fukubawa, 1974). Вопрос о существовании дофаминовых рецепторов в других гладкомышечных органах остается открытым. Имеются лишь единичные сообщения (Пустовойтова, 1969) в пользу существования дофаминовых рецепторов в гладких мышцах кишечника.

В настоящем исследовании в опытах на отрезках тонкой кишки крысы исследовалось влияние ряда специфических агонистов и антагонистов катехоламинов.

### Методы исследований

Изолированные отрезки тонкой кишки крыс (масса 150 ... 200 г) помещали в оксигенируемый раствор Кребса при температуре 38°C. Изменение тонуса регистрировали рычажком Энгельмана с соотношением плеч 1:2 при погрузке на препараты в 0,5 г. Исследовали влияние адреналина, норадреналина, дофамина, апоморфина, фенамина и амантадина на тонус кишки. В качестве антагонистов применяли блокаторы  $\alpha$  и  $\beta$ -адренорецепторов и блокаторы дофаминовых рецепторов. Время экспозиции равнялось 5 мин. Каждое вещество испытывали на 5...8 отрезках кишки. Полученные результаты усредняли и вычисляли стандартную ошибку к ним. Сравнение данных проводили с использованием  $t$  - теста Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

ДА, апоморфин, фенамин, амантадин вызвали расслабление гладкой мускулатуры (рис. 1). Наиболее сильный эффект наблюдался у апоморфина,  $ED_{50}$  для которого составляла  $10^{-7}$  М. Л-ДОФА вызывал расслабление на 50% от максимального лишь в

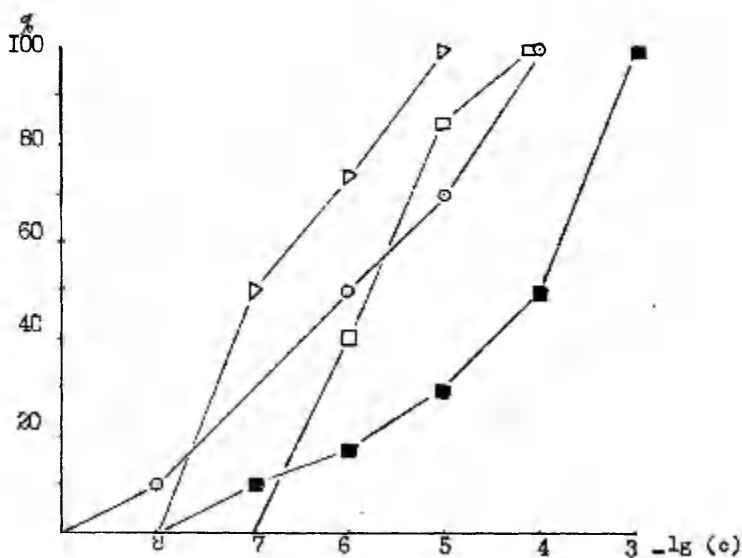


Рис. 1. Влияние дофаминергических веществ на тонус гладкой мускулатуры тонкой кишки крысы. По оси абсцисс — логарифм концентрации, по оси ординат — эффект веществ (в % от максимального).

Обозначения: — □ — дофамин, — Δ — апоморфин,  
— ○ — фенамин, — ◇ — амантидин

концентрации  $5 \cdot 10^{-5}$  М. Норадреналин (НА), подобно дофаминомиметикам, также вызывал расслабление мускулатуры:  $ED_{50}$  для него составляла  $6 \cdot 10^{-6}$  М. Апоморфин в концентрации  $10^{-8}$  —  $10^{-4}$  М, добавленный в ванночку, содержащую адреналин (А) ( $10^{-7}$  М) или ДА ( $10^{-6}$  М), вызывал дополнительное расслабление отрезка кишки (рис. 2). Однако при добавлении ДА ( $10^{-5}$  М) на высоте максимального расслабления не вызывал дополнительного расслабления. Это свидетельствует о том, что ДА и апоморфин вызывают расслабление гладкой мускулатуры взаимодействия с одними и теми же рецепторами.  $\beta$ -блокатор пропранолол и  $\alpha$ -блокатор дигидроэрготамин антагонизировали действие А на гладкую мускулатуру (рис. 2). У ДА в концентрации  $10^{-6}$  М на



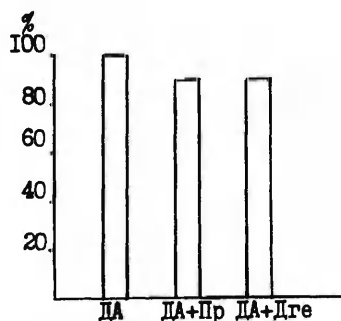
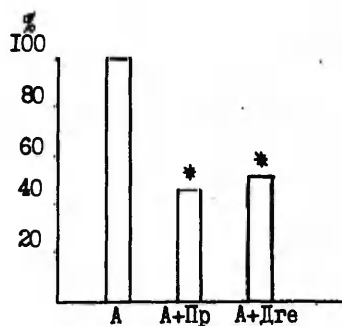


Рис. 2. Влияние пропранолола ( $10^{-5}$  М) и дигидроэрготамина ( $10^{-6}$ ) на расслабление тонкой кишки крысы, вызываемое адреналином (верхний график) дофамином (нижний график) в концентрации  $10^{-6}$  М. На оси ординат: эффект в процентах по отношению к эффекту катехоламинов в концентрации  $10^{-6}$  М, принятому за 100%. Достоверные различия с контролем при  $F < 0,05$  обозначено \*.

фоне пропранолола и дигидроэрготамина эффект ослаблялся лишь незначительно.

Нейролептики галоперидол и левомепромазин ( $10^{-6}$  М)

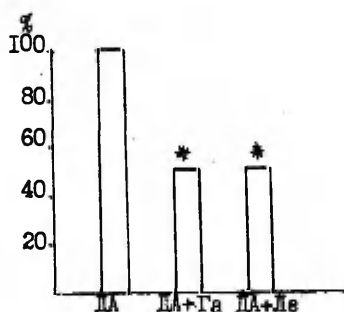
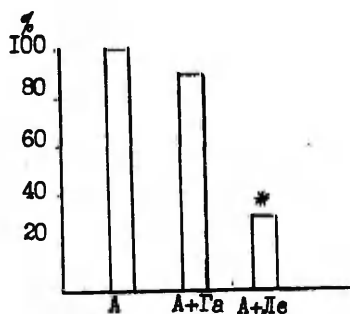


Рис. 3. Влияние галоперидола (ГА;  $10^{-5}$  М) и левомепромазина (ЛЕ;  $10^{-5}$  М) на расслабление тонкой кишки крысы, вызываемое адреналином (верхний график) и дофамином (нижний график) в концентрации  $10^{-6}$  М. Обозначения те же, что и на рис. 2

уменьшали эффекты как А, так и ДА (рис. 3). Однако галоперидол антагонизировал в большей степени эффектам ДА, чем А.

Результаты опытов позволяют предположить существование рецепторов в гладкой мускулатуре тонкой кишки, чувствительных к ДА. В пользу этого предположения говорит тот факт, что

блокаторы  $\alpha$  и  $\beta$  -адренорецепторов не полностью блокируют эффекты ДА, а блокатор дофаминовых рецепторов галоперидол (Раевский, 1976) в большей степени антагонизирует эффектам ДА. Данные, полученные в настоящем исследовании, не соответствуют данным И.В. Комиссарова и соавторов, 1975, в опытах которых на севастопольских протоках крыс  $\alpha$  и  $\beta$ -блокаторы равным образом антагонизировали эффектам ДА и НА. Возможно, что расхождения связаны с различными объектами, выбранными для изучения, и условиями опыта.

#### Литература

1. Комиссаров И.В., Реуцкая Г.И. Влияние дофамина на гладкие мышцы, крыс и особенности  $\alpha$ -адренорецепторов мышечных клеток желудочно-кишечного тракта. Бюлл. exper. биол. мед., 1978, т. 85 № 2, с. 180.
2. Пустовойтова З.Е. - В кн.: Дофамин. М., 1969, с. 29.
3. Раевский К.С. Фармакология нейролептиков. М., "Медицина", 1976.
4. Endoh M. Effects of dopamine on sinus rate and ventricular contractile force of the dog heart "in vitro" and "in vivo". Br. J. Pharmacol., 1975, v. 55, 475... 486.
5. Goldberg L.I. The dopamine vascular receptor. Biochem. Pharmacol., 1975, v. 24, 651...653.
6. Morishita H., Fukubawa T. Possible mechanisms involved in the depressor response to dopamine. Arch. Int. Pharmacodyn., 1974, 212, 317-327.

THE EFFECT OF DOPAMINERGIC COMPOUNDS ON THE SMOOTH  
MUSCLE OF THE RAT SMALL INTESTINE

S. Jyrisson, A. Zharkovsky

S u m m a r y

In experiments on sections of the rat small intestine dopamine and other dopaminergic compounds caused a decrease of the smooth muscle tone. The strongest effects were seen in the case of apomorphine. The dopamine receptor blockers haloperidol and levomepromazine antagonized dopamine relaxation while  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenoblockers dehydroergotamine and propranolol had a small effect only. It is concluded that dopamine sensitive receptors are present in the smooth muscle of the rat small intestine.

ОБ ИЗМЕНЧИВОСТИ СОСТАВА ЭФИРНОГО МАСЛА РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ. Арак Э., Мязорг У., Таммеорг И., Пехк Т. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 6-18.

Методом ГЖХ удалось обнаружить наличие 16 компонентов эфирного масла ромашки. С помощью проточной хроматографии изолировали из эфирного масла хамазулен, фарнезен,  $\alpha$ -бизаболол,  $\alpha$ -бизабололоксиды А и В,  $\alpha$ -бизаболоноксид А, цис-ен-ин-дициклозфир. Для идентификации их применяли методы УФ, ИК и ЯМР спектроскопии.

Установили, что цветки дикорастущей ромашки аптечной с острова Сааремаа не содержат  $\alpha$ -бизаболола.

Качество цветков ромашки зависит от гемотида растения. По этим причинам для оценки качества цветков ромашки нельзя ограничиваться только определением эфирного масла в них, как этого требуют нормативные документы. Для оценки качества цветков ромашки целесообразно разработать более точные методы.

Библ. - 20 назв.; табл. - 2; иллюстр. - 5.

О ДИНАМИКЕ НЕКОТОРЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭФИРНОГО МАСЛА РОМАШКИ  
АПТЕЧНОЙ. Арак Э., Таммеорг Й., Мязорг У. - Уч. зап.  
Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 19-32.

Количественное содержание ЭМ ромашки аптечной и его компонентов ( фарнезен,  $\alpha$ -бизаболол,  $\alpha$ -бизабололоксиды А и В  $\alpha$ -бизаболоноксид А, хамазулен, пис-ен-ин-дициклоэфир) в цветочной корзинке зависит от стадии ее развития. Качественный состав остается постоянным.

Содержание ЭМ,  $\alpha$ -бизаболола,  $\alpha$ -бизаболонооксида А,  $\alpha$ -бизабололоксидов А и В достигает максимума в стадии полного цветения, а позднее снижается. Максимальное содержание фарнезена в стадии бутонизации. ЭМ и его компоненты распределяются неравномерно по отдельным частям цветочной корзинки, их накопление в цветках ромашки продолжается и при сушке. При повторном сборе ЛРС состав ЭМ не ухудшается. Для определения содержания ЭМ применен модифицированный фармацевтический прибор, а для определения компонентов ЭМ - метод газ-жидкостной хроматографии.

Библ. - 8 назв.; табл. - 5, иллюстр. - 5.

ВЛИЯНИЕ ПАВ НА ПРОЦЕСС ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ЦВЕТКОВ РОМАШКИ  
АПТЕЧНОЙ И БЕЗЪЯЗЫЧКОВОЙ. Кирш Л. - Уч. зап. Тартуского  
гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 33-40.

Экспериментально было изучено содержание кумаринов и флавоноидов в водных вытяжках (настоях) ромашки аптечной и безъязычковой. Настои изготавливали экстенпорально по ГФХ в соотношении 1:20. В качестве экстрагента применяли воду и водные растворы твина-80 в концентрациях 0,02, 0,05, 0,1, 0,2, и 0,5%.

Содержание кумаринов и флавоноидов определяли фотоэлектродетекторным и спектрофотометрическим методами.

Было выяснено, что в присутствии ПАВ в концентрациях 0,1-0,2% увеличивается содержание кумаринов в настое на 15,6% и содержание флавоноидов на 5,9% по сравнению с содержанием кумаринов и флавоноидов в чистоводном настое.

Библ. - 15 назв. табл. - 2, иллюстр. - 2.

КУМАРИНЫ ПАСТУШЕЙ СУМКИ. Юриссон С. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 41-43.

При проведении количественного определения кумариновых производных выяснилось, что в траве во время цветения содержится 0,03-0,5%, а в траве, пораженной грибом, содержание кумариновых производных резко повышается 0,58-0,75%.

Было установлено наличие кумариновых производных в траве пастушей сумки, нормальной и пораженной грибом. С помощью хроматографии на бумаге были идентифицированы кумарин и дикумарин.

Библ. - 9 назв.

ВЛИЯНИЕ УДАЛЕНИЯ ЦВЕТКОВ НА СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ ДУРМАНА ОБЫКНОВЕННОГО, КУЛЬТИВИРОВАННОГО В СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ ЭСТОНСКОЙ ССР. Коппель В., Таммеорг Й. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 44-52.

С части растений дурмана обыкновенного, культивированного вблизи города Таллина на нейтрально дерново-известняковой почве, удалили все бутоны цветков. Алкалоиды определили электрофорезно-фотоколориметрическим методом.

Максимальное содержание алкалоидов в нормально развивающихся растениях во время образования плодов (18 вегетационная неделя). В листьях растений, у которых были удалены цветки, алкалоидов больше. Содержание гиосциаминина в листьях и корнях этих растений максимальное также на 18 неделе. Максимальное содержание скополамина в листьях на 12 неделе, а в корнях - на 15 неделе. Сумма алкалоидов в листьях подопытных растений показывает абсолютный максимум в конце вегетационного периода, второй максимум - на 18 неделе. В течение пяти лет на 18 вегетационной неделе высота растений, с которых были удалены цветки, всегда превышала рост контрольных растений в 1,7 раза, их листья выросли значительно крупнее. Урожай листьев превышал 2,4 раза, урожай алкалоидов с гектара - в 3,8 раза, чем урожай листьев и алкалоидов нормальных растений.

Библ. - 10 назв.; табл. - 4.

О БИОСИНТЕЗЕ ТРОПАНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ В ДУРМАНЕ ОБЫКНОВЕННОМ В УСЛОВИЯХ УДАЛЕНИЯ ЦВЕТКОВ ПРИ АССИМИЛЯЦИИ РАДИОАКТИВНОГО УГЛЕРОДА. Коппель В. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 53-58.

Надземные части дурмана обыкновенного, с которых цветки были удалены, экспонировали на 14 вегетационной неделе в герметичном боксе из оргстекла в среде  $^{14}\text{CO}_2$ , и собирали листья в разные промежутки времени в течение 30 дней. Гиосциамия и скополамин приобрели максимальную удельную радиоактивность (УР) на 16 день после экспонирования. УР гиосциамины выше, чем УР скополамина, на 8 и 10 день различие двукратное.

При экспонировании нормальных и подопытных растений в среде  $^{14}\text{CO}_2$  по вегетационным неделям (Вн) (листья и корни собирались на 8-9 день) УР алкалоидов уменьшалось с 6 по 10 неделю. В то же время количество алкалоидов возросло (быстрое использование алкалоидов в процессе метаболизма). После 10 Вн УР алкалоидов растений без цветков меньше, чем в контрольных растениях. После 13-14 Вн количество алкалоидов возросло УР гиосциамины уменьшилось, УР скополамина увеличилось. УР алкалоидов в листьях выше, чем в корнях. Начиная с 16-17 Вн УР биосинтез алкалоидов в корнях растений без цветков активизируется (максимальное содержание гиосциамины, высокая УР гиосциамины и скополамина).

Биол. - 4 назв.; табл. - 2.



О ВЛИЯНИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА НАКОПЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ЛИСТЯХ ДУРМАНА ПРИ УДОБРЕНИИ ПОЧВЫ РАЗНЫМИ ДОЗАМИ АЗОТА. Таммариу И. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 59-64.

В условиях вегетационных опытов изучалось влияние микро-элементов бора, кобальта и марганца на урожай и содержание алкалоидов в листьях дурмана обыкновенного. Микроэлементы бор, кобальт и марганец в дозе 1 мг элемента на 1 кг почвы вносились в почву весной перед посевом семян. Азот вносился в почву в двух дозах: 75 мг N (однократная доза) и 225 мг N (трехкратная доза) в виде нитрата аммония.

Выяснилось, что на фоне без азота микроэлементы бор, кобальт и марганец действуют на дурман токсически, понижая накопление гиосциаминна в листьях дурмана. На фоне однократной дозы азота проявляется стимулирующий эффект микроэлементов бора, кобальта и бора - повышается урожай листьев и накопление гиосциаминна.

На фоне трехкратной дозы азота действие микроэлементов бора, кобальта и марганца не проявляется.

Библ. - 1 назв.; табл. - 3.

**О ВЛИЯНИИ БОЛЬШИХ ДОЗ КОБАЛЬТА НА НАКОПЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ  
В ДУРМАНЕ ОБЫКНОВЕННОМ.** Таммаду И. - Уч. зап. Тартуского  
гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 65-70.

В условиях вегетационных опытов изучалось влияние больших доз кобальта на дурман. Дозы кобальта были 3, 5 и 10 мг Со на 1 кг почвы. Фоном был НРК.

Выяснилось, что большие дозы кобальта снижают урожай всех органов дурмана. Высокие дозы кобальта снижают также содержание алкалоидов в листьях дурмана. Содержание гиосциаминина снижается под влиянием кобальта, при том тем больше, чем выше доза кобальта. Содержание скополамина также снижается под влиянием кобальта, но не наблюдается заметной зависимости от дозы.

Влияние кобальта на содержание алкалоидов в стеблях оптимальное при дозе кобальта 5 мг на 1 кг почвы, при этом повышается содержание гиосциаминина и скополамина.

Процентное содержание алкалоидов в корнях дурмана повышается под влиянием высоких доз кобальта.

Библ. - 4 назв.; табл. - 3.

УДК 616-073.755.4:615.014.4

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ЙОТАЛАМОВОЙ КИСЛОТЫ И ВАЗОГРАФИНА.  
Пааво М., Луйк Б. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та,  
вып. 523, 1980, с. 71-76.

Экспериментальное исследование срока годности йоталамовой кислоты и его раствора - вазографина проводили при повышенных температурах ( $50^{\circ}\text{C}$  и  $60^{\circ}\text{C}$ ) по методу "ускоренного старения".

Результаты периодических (через 11 дней при  $60^{\circ}\text{C}$  и 23 дня при  $50^{\circ}\text{C}$ ) химических и физико-химических анализов подтверждают устойчивость йоталамовой кислоты при хранении. Небольшое изменение вазографина при экспериментальном хранении не вызвало токсических явлений в опытах на животных. Выяснилось, что срок годности йоталамовой кислоты и вазографина не менее 5 лет при температуре  $20^{\circ}\text{C}$ .

Библ. - 7 назв.; табл. - 1.

УДК 616-073.755.4:/615.011.4.073:535.243/

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЙОТАЛАМОВОЙ КИСЛОТЫ И ВАЗОГРАФИНА. Пааво М. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 77-85.

Спектрофотометрическое изучение нового рентгеноконтрастного препарата йоталамовой кислоты и вазографина в ультрафиолетовой области спектра показало, что йоталамовая кислота имеет один максимум светопоглощения при длине волны 241 нм. На основе найденного удельного показателя поглощения  $E_{1\%}^{1\text{см}}$ , 241 нм = 530 (0,001% раствор в 95%-ном этаноле и в щелочной среде, pH 7-8) разработаны методики количественного определения йоталамовой кислоты в чистом виде и в лекарственной форме - 70%-ном растворе вазографина без предварительного разделения других компонентов раствора.

Библ. - 5 назв.; табл. - 3; иллюстр. - 3.

УДК 615.356:577.164/074:543.253

**ХРОМАТОПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИКОТИНАМИДА В МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ВИТАМИННЫХ ПРЕПАРАТАХ.** Крузе И. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 86-93.

Изучены условия разделения никотинамида от сопутствующих веществ на сильноосновном анионите Amberlite IRA 410. Разработана хроматополярографическая методика количественного определения никотинамида в многокомпонентных витаминных препаратах. Потенциал полуволны никотинамида на фоне 0,05 М едкого натра -1,76 в по отношению к нас. к.э. Относительная ошибка метода не превышает +3,5%. Методика является специфической для никотинамида. Продолжительность анализа 2 часа.

Библ. 10 назв.; табл. - 3.

УДК 615.356:577.164/074:543.253

**ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ И ЛИПАМИДА.** Крузе И. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 94-98.

Изучено полярографическое поведение липовой кислоты и липаида. Получены четкие волны восстановления. Потенциал полуволны липовой кислоты -0,63 в при pH 7,0;  $-\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 60$  мВ и 30 мВ при pH 1 - 9 и  $> 9$  соответственно. Величины  $E_p$  переменноточковых волн:  $E_{1/2} - 40$  мВ. Потенциал полуволны липаида -0,69 в при pH 7,0;  $-\Delta E_{1/2} \Delta \text{pH} = 170$  мВ, 70 мВ и 30 мВ при pH  $< 4$ , 4 - 9,7 и  $> 9,7$  соответственно.  $E_p$  переменноточковых волн:  $E_{1/2} - 15$  мВ. Разработана методика количественного определения липаида в многокомпонентных витаминных препаратах на фоне раствора фосфатного буфера pH 6,8 с добавкой 20%-ного диметилформаида. Относительная ошибка метода не превышает +2,3%. Продолжительность анализа 45 минут.

Библ. 7 назв.; табл. - 1.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОКСИДИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИФТАЗИНА. Аннук К., Луйк Б. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 99-106.

В данной работе сравнительно изучали химические свойства трифтазина и свойства других фенотиазинов для применения этих свойств при количественном определении трифтазина. Эксперименты проводились такими оксидиметрическими методами, как цериметрия, йодометрия и перманганометрия. Для количественного определения трифтазина в порошках, таблетках и драже авторы рекомендуют применять выработанную перманганометрическую методику, при которой релятивная ошибка меньше 0,88%. Релятивная ошибка при цериметрии еще меньше (0,18%), но перманганометрический метод экономичнее. Йодометрический метод не дал реальных результатов.

Библ. - 14 назв.

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА ПРОСТАГЛАНДИНА  $E_2$  НА ИЗОЛИРОВАННУЮ ТОНКУЮ КИШКУ И МАТКУ КРЫС. Раявэе О.Л., Хаяссон Э.Ю., Хинрикус Т.А. - Уч. зап. Тартуского гос. ун-та вып. 523, 1980, с. 107-115.

Препарат ПГЕ<sub>2</sub> стимулирует двигательную активность изолированных отрезков матки и тонкой кишки крыс. При действии на матку ПГЕ<sub>2</sub> оказался синергистом окситоцина и антагонистом прогестерона. Физостигмин незначительно повышал, а атропин в той же степени понижал стимулирующее действие ПГЕ<sub>2</sub> на тонкую кишку. Папаверин полностью подавлял стимулирующие эффекты ПГЕ<sub>2</sub> как в матке, так и в тонкой кишке.

Библ. - 7 назв.; иллюстр. - II.

УДК. 615.214.2

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОЛЕПТИКОВ НА СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ  
ПРИ ОДНОКРАТНОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ. Алликметс Л.,  
Оттер М., Хинрикус Т., Жарковский А. - Уч. зап. Тарту-  
ского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 116-121.

185 белым крысам линии Вистар вводили галоперидол, лево-  
мепромазин и флюфеназин (1-10 мг/кг) внутрибрюшинно одно-  
кратно и хронически 5, 10 и 15 дней. После 2 и 24 час. вве-  
дения определяли 5-ОТ и 5-ОИУК в переднем мозге и стволе  
мозга спектрофотометрически. Нейролептики вызывали ка-  
талепсию у животных, но через 10 дней хронического введения  
вырабатывается толерантность к нейролептикам. Появление то-  
лерантности связано с изменением содержания 5-ОТ и 5-ОИУК,  
что говорит об участии серотонинергической системы в дейст-  
вии нейролептических веществ.

Библ. - 12 назв.; табл. - 2.

УДК 57.034

ГОДОВАЯ ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ СЕРТОНИНА И ЕГО МЕТАБОЛИТА  
В МОЗГЕ КРЫС. Нурманд Л., Оттер М. - Уч. зап. Тартуско-  
го гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 122-125.

На 300 крысах-самцах линии Вистар изучены годовые изме-  
нения содержания серотонина и его главного метаболита 5-ОИУК  
в переднем мозге и в стволе мозга. Эксперименты проводились  
ежемесячно в продолжении 6,5 лет. В течение летних месяцев  
(май, июнь, июль) содержание серотонина в мозге  
крыс значительно выше показателей остальных месяцев. Изме-  
нения содержания 5-ОИУК меньше выражены.

Библ. - 17 назв.; табл. - 1.

ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ГЛАДКИЕ МЫШЦЫ  
ТОНКОГО КИШЕЧНИКА КРЫСЫ. Юриссон С., Жарковский А. - Уч.  
зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 523, 1980, с. 126-131.

В опытах на отрезках тонкой кишки крысы установлено, что дофамин и вещества дофаминомиметического действия вызывают расслабление тонкой кишки крысы. Наиболее выраженный эффект оказывал апоморфин. Блокаторы дофаминовых рецепторов галоперидол и левомепромазин антагонизировали эффектам дофамина, а блокаторы  $\alpha$  - и  $\beta$  -адренорецепторов дигидроэрготамин и пропранолол оказались менее эффективным. Предполагается, что в гладкой мускулатуре тонкой кишки имеются специфические рецепторы, чувствительные к дофамину.

Библ. - 6 назв.; иллюстр. - 3.

Ученые записки Тартуского государственного университета.  
Выпуск 523. ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ  
И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ препаратов. Труды по медицине XLV. На  
русском языке. Резюме на английском и немецком языках.  
Тартуский государственный университет. ЭССР, г.Тарту, ул.  
Юликооли, 18. Ответственный редактор И.Таммеорг. Коррек-  
торы В.Логинова, К.Уусталу. Сдано в печать 28.05.1980. Бу-  
мага печатная 30x45 1/4. Печ. листов 9,75. Учетно-издат.  
листов 7,43. МВ 05360. Тираж 350. Типография ТГУ, ЭССР,  
г. Тарту, ул. Пялсона, 14. Зак. № 617. Цена 1 руб. 10 коп.